

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1902-1903. — N° 89

Travail du Laboratoire de Physique médicale

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

DE

L'Action bactériologique de l'Ozone

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 27 Décembre 1902

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Marc TROUDE

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE DE LYON

Né le 26 mars 1879, à St-Pol-sur-Ternoise (Pas-de-Calais)



LYON

IMPRIMERIE MOUGIN-RUSAND, WALTENER & C^{te} SUCCESSIONS

3, rue Stella, 3

1902

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

DE

L'Action bactériologique de l'Ozone



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1902-1903. — N° 89

Travail du Laboratoire de Physique médicale

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

DE

L'Action bactériologique de l'Ozone

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 27 Décembre 1902

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Marc TROUDE

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE DE LYON

Né le 26 mars 1879, à St-Pol-sur-Ternoise (Pas-de-Calais)



LYON

IMPRIMERIE MOUGIN-RUSAND, WALTENER & C^{ie} SUCCESSIONS

3, rue Stella, 3

—
1902



PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET.	DOYEN.
LACASSAGNE	ASSESEUR.
CROLAS.	QUESTEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, CHAUVEAU

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. LÉPINE.
Cliniques chirurgicales	BONDET.
Clinique obstétricale et Accouchements.	BARD.
Clinique ophtalmologique	PONCET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	JABOULAY.
Clinique des maladies mentales	FOCHIER.
Clinique des maladies des enfants	GAYET.
Physique médicale.	GAILLETON.
Chimie médicale et pharmaceutique	PIERRET.
Chimie organique et Toxicologie	WEILL.
Matière médicale et Botanique	MONOYER.
Parasitologie	HUGOUNENQ.
Anatomie	CAZENEUVE.
Anatomie générale et Histologie.	FLORENCE.
Physiologie.	LORTET.
Pathologie interne	TESTUT.
Pathologie externe.	RENAUT.
Pathologie et Thérapeutique générales	MORAT.
Anatomie pathologique	TEISSIER.
Médecine opératoire	AUGAGNEUR.
Médecine expérimentale et comparée.	MAYET.
Médecine légale	TRIPPIER.
Hygiène	POLLOSSON (M.)
Thérapeutique.	ARLOING.
Pharmacologie	LACASSAGNE.
	COURMONT (J.)
	SOULIER.
	CROLAS.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Clinique des maladies des femmes.	MM. POLLOSSON (A.) agrégé
Maladie des voies urinaires	CHANDELUX, —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx.	LANNOIS, —
Propédeutique médicale	ROQUE, —
Propédeutique chirurgicale	ROLLET, —
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN, —
Anatomie pathologique	DEVIC, —
Physiologie.	DOYON, —
Accouchements	FABRE, —
Botanique	BEAUVISAGE, —

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
ROUX.	SIRAUD.	BÉRARD.	VILLARD.
COLLEL.	DURAND.	SAMBUC.	TIXIER.
BOYER.	PIC.	BORDIER.	FABRE.
BARRAL.	PAVIOT.	COURMONT (P.).	REGAUD.
MOREAU.	NOVE-JOSSERAND.	CHATIN.	CAUSSE, ch.
VALLAS.			

M. BEAUDUN, Secrétaire

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. ARLOING, Président; M. ROQUE, Assesseur;
MM. BORDIER et COURMONT (P.), Agrégés.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

Je dédie ce modeste travail comme
un faible témoignage de ma pro-
fonde affection et de ma sincère
reconnaissance.

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

A MES MAÎTRES DE L'ÉCOLE DU SERVICE
DE SANTÉ MILITAIRE

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ARLOING

Membre Correspondant de l'Institut
Professeur de Médecine expérimentale à la Faculté de Médecine
Directeur de l'Ecole Vétérinaire de Lyon
Directeur-Inspecteur de l'Institut antituberculeux d'Hauteville
Officier de la Légion d'honneur

A MONSIEUR LE DOCTEUR BORDIER

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine

INTRODUCTION

Au mois de décembre 1901, M. le Dr J. Baur soutenait, devant la Faculté de Lyon, une brillante thèse sur l'action physiologique de l'ozone. Après une intéressante critique des différents modes de production de l'ozone, il relatait les expériences qu'il avait faites dans le laboratoire de physique médicale et concluait en montrant le rôle important que peut jouer l'ozone dans la nutrition des animaux.

Si l'ozone jouit de propriétés envers les individus élevés en organisation, il manifeste également son action sur toute la série des êtres vivants inférieurs ; les microbes ne sont pas soustraits à son influence.

Dès son apparition dans la chimie, les expérimentateurs s'efforcèrent de déceler son action sur la cause pathogène encore alors mystérieuse que l'on désignait sous le nom de *miasmes*. Ses affinités chimiques pour les corps organiques furent mises aussitôt en lumière ; l'ozone fut classé parmi les puissants désinfectants à côté du chlore et de l'anhydride sulfureux.

Avec la découverte des bactéries, l'étude du rôle antiseptique de l'ozone entre dans une nouvelle phase. Les causes morbides n'étaient plus des entités mal définies, mais des individus nettement spécialisés, connus dans leur morphologie et leurs fonctions. L'ozone avait-il toujours sur ces agents pathogènes la même influence que précédemment? Était-il susceptible, chaque fois qu'il se trouvait en leur présence, de les attaquer dans leurs propriétés biologiques, sinon dans leur vitalité? De nouveau, chimistes, bactériologistes, physiiciens se mirent à l'œuvre et édifièrent quantité de travaux. Combien alors furent différents les résultats obtenus! Aux données qui, autrefois, paraissaient si solidement établies sur la valeur antiseptique de l'ozone, succédèrent des conclusions incertaines sur son influence bactériologique.

Les uns affirmaient que l'action bactéricide de l'ozone était indiscutable: les autres prétendaient que son rôle était illusoire et nul. De plus en plus nombreuses s'accumulaient les recherches destinées à établir l'influence de l'ozone sur la vitalité et la virulence des microbes. Cette action, jointe à sa valeur thérapeutique, constitue les éléments d'une vaste question sur laquelle planent encore des incertitudes.

Il était nécessaire d'éclaircir ce sujet et de rechercher les causes d'une telle divergence dans les résultats.

Si l'on étudie dans le détail les procédés qui furent employés pour produire l'ozone, si l'on fait la critique des moyens dont se servirent les expérimentateurs pour calculer les quantités d'ozone dont ils disposè-

rent, l'on s'aperçoit bien vite des imperfections qui accompagnèrent les recherches. Faible quantité d'ozone, erreurs dans les dosages, parfois même absence de stérilisation des milieux étaient autant de causes d'échec; l'intervention d'un phénomène étranger et indéterminé dans l'atténuation des propriétés biologiques des bacilles, constituait d'autre part, l'élément principal d'un succès dont l'ozone n'était pas redevable.

M. Bordier, sous l'inspiration de qui fut déjà publié le travail de M. J. Baur, nous confia le soin de poursuivre les recherches relatives à l'action de l'ozone sur les microbes. Nous aidant de l'exemple qu'il nous a fourni dans ses expériences sur le bacille de Koch, nous avons tenté d'étudier l'influence de l'ozone sur le bacille de Loeffler.

Dans notre exposé, nous examinerons successivement les différents modes de production de l'ozone, en insistant particulièrement sur l'appareil de M. H. Bordier. Après avoir déterminé les procédés employés pour doser l'ozone, nous étudierons ses propriétés et spécialement son action bactériologique; nous rappellerons les nombreuses expériences destinées à prouver ou à nier son influence; enfin, nous terminerons par la relation des recherches qui furent effectuées au laboratoire de physique médicale par M. H. Bordier, sur le bacille de Koch et par nous-même sur le bacille de Loeffler.

M. le professeur Arloing nous fait l'honneur d'ac-

cepter la présidence de notre thèse, qu'il daigne recevoir l'assurance de notre profonde gratitude.

M. le professeur agrégé Bordier nous a accueilli avec une extrême bienveillance dans son laboratoire ; il a bien voulu nous guider dans nos recherches ; nous le prions d'agréer l'expression de notre vive reconnaissance.

Nous adressons nos remerciements à M. le docteur Fernand Arloing, qui nous reçut toujours avec la plus grande affabilité au laboratoire de médecine expérimentale, et dont les conseils nous furent si précieux dans la conduite de ce travail.

Merci, enfin, à notre camarade et ami, M. le docteur Gaston Vermullen, qui nous permit, grâce à sa connaissance approfondie de la langue anglaise, de rassembler plusieurs documents importants relatifs à notre étude.

CHAPITRE PREMIER

Production de l'Ozone

En 1783, Martin von Marum, chimiste hollandais, remarquait que lorsqu'on fait jaillir des étincelles électriques dans un certain volume d'oxygène, le gaz prend une odeur spéciale. Ce savant ne cherche pas à déterminer la nature d'un corps nouveau.

Ce fut Schœnbein (1) qui, en 1839, découvrit véritablement l'ozone, en soumettant à l'électrolyse de l'eau fortement acidulée, et en se servant d'électrodes inoxydables; le tube, sous lequel l'oxygène, renfermait, outre ce dernier, une quantité appréciable d'ozone.

Depuis Schœnbein, un certain nombre de procédés furent employés pour produire l'ozone; les uns sont des appareils de laboratoire; les autres exigent, grâce à leurs dimensions, une installation spéciale, ou ser-

(1) Schœnbein. — Communication à la Société physique de Bâle, 1839.

vent dans les hôpitaux pour les applications thérapeutiques.

On peut diviser les procédés destinés à produire l'ozone en deux groupes :

- 1^o Moyens chimiques ;
- 2^o Moyens physiques.

I. — *Moyens chimiques.* — Les procédés chimiques ne permettent d'obtenir que de très faibles quantités d'ozone. Nous citerons les suivants :

Schœnbein, outre le moyen indiqué plus haut, obtint l'ozone en oxydant lentement à 20° dans l'air un bâton de phosphore.

Houzeau (1) prépare l'ozone en mettant en présence l'acide sulfurique et le bioxyde de baryum. On peut encore le produire par l'action de l'acide sulfurique sur le permanganate de potassium.

Toute combustion lente de matières combustibles dégage de l'ozone : un flacon d'essence de térébenthine débouché contient, au bout d'un certain temps, une proportion notable de ce gaz.

II. — *Moyens électriques.* — Une machine statique en activité produit de l'ozone. Ce gaz, dès que la machine est en mouvement, se révèle par son odeur caractéristique. Nous verrons combien est faible la quantité d'ozone dégagé, ainsi que le démontrèrent MM. Bordier et Crolas.

(1) Houzeau. — *Annales de chimie et de physique*, 1861, t. LXII, p. 429.

Les autres procédés électriques donnent un débit plus considérable, mais souvent encore bien insuffisant. Le principe consiste à faire circuler un courant d'air ou d'oxygène entre deux conducteurs dégageant des effluves.

« Le maximum d'effet dans la transformation allotropique de l'oxygène se produit, non pas sous l'influence d'étincelles brillantes, mais grâce à un courant d'électricité diffuse, visible dans l'obscurité sous forme de lueurs ou de points lumineux, de couleur et d'aspect variables avec la nature et la résistance du milieu traversé par l'électricité. » (Andrews et Tail) (1).

L'oxygène subit alors une transformation spéciale, une véritable condensation de ses atomes (2).

L'appareil de Werner Siemens (3) se compose de trois tubes : dans les deux tubes intérieur et extérieur se trouve de l'eau acidulée ; dans le tube moyen passe un courant d'oxygène. La solution acidulée est mise en communication avec une machine électrique. L'oxygène, en traversant le tube moyen, se transforme partiellement en ozone.

Thénard (4) construisit un appareil analogue, mais remplaça l'eau acidulée par une solution de chlorure d'antimoine dans l'acide chlorhydrique. Ce liquide était mis en contact avec les fils provenant d'une bobine de Ruhmkorff.

1) Troost. — *Traité de chimie*.

2) Langlois. — *Précis d'hygiène publique et privée*, 1901.

3) Morton. — Ozone and its uses in medicine. *New-York Med. Journal.*, 25 juin 1891.

4) Thénard. — *Compte rendu de l'Acad. des Sciences*, t. LXXXV, p. 438.

L'appareil de Berthelot (1) est celui dont on se sert ordinairement dans les laboratoires : il est formé d'un tube large, auquel sont soudés deux tubes à dégagement. Dans le tube large plonge un autre tube de moindre diamètre et plein d'eau rendue conductrice par de l'acide sulfurique. Ce tube est rodé à l'émeri sur le premier, de manière à former une fermeture hermétique. Le tout est plongé dans une éprouvette également remplie d'eau acidulée. Les électrodes plongent dans le tube et dans le liquide de l'éprouvette. La décharge diffuse se produit dans l'atmosphère d'oxygène, qui entre lentement par un des tubes soudés, tandis que l'oxygène ozonisé sort par l'autre tube de dégagement.

Tysley (de Londres) modifia le dispositif de Berthelot en refroidissant l'appareil par un courant d'eau froide : il obvia de cette façon à la décomposition partielle de l'ozone.

D'autres expérimentateurs évitèrent l'emploi de liquides comme conducteurs : c'est ainsi que Ruhmkorff se servait de plaques de verre situées à un faible intervalle l'une de l'autre et garnies de feuilles d'étain. Ces plaques reliées à une bobine, étaient réunies dans une boîte pourvue de tubulures pour permettre l'entrée de l'air et le dégagement de l'ozone.

L'appareil de Houzeau (2) se compose essentielle-

(1) Berthelot. — *Ann. de chim. et de phys.*, 1877, t. X, p. 162.

(2) Houzeau. — *Bulletin de la Société de chimie*, t. XV, Compte rendu de l'Académie des Sciences, 1872, t. LXXIV, p. 217.

ment d'un tube de verre long de 40 centimètres environ. Un fil de platine ou d'aluminium traverse ce tube; un autre fil est enroulé en spirale à sa surface extérieure; on réunit les extrémités de ces deux fils aux bornes d'une bobine de Ruhmkorff, tandis que circule dans le tube un courant d'air ou d'oxygène. Houzeau obtenait au moyen de cet appareil, en 40 secondes, 1/10 de milligramme d'ozone par litre.

Récemment, M. Chatelain (1) a pris comme armature de la limaille de fer placée dans un tube de verre occupant l'air de l'ozoneur. Quant à l'armature externe il l'a faite avec une toile métallique. Le rendement en ozone est ainsi augmenté et plus considérable qu'avec les modèles précédents.

Cet auteur a encore modifié cet ozoneur, il a constitué les armatures interne et externe par un espace dans lequel existe un vide formé à un très haut degré et qu'on appelle le vide de Crookes. L'appareil se trouve alors formé de trois enveloppes de verre limitant deux espaces clos dans lesquels arrivent les extrémités de fils d'aluminium formant les bornes de l'ozoneur et entre lesquels se trouvent un espace annulaire destiné à être le siège de décharges obscures et où l'on fait circuler le gaz, air ou oxygène, à ozoniser.

M. Chatelain a trouvé qu'en opérant dans les mêmes conditions, ce dernier modèle d'ozoneur produit plus d'ozone que celui à la limaille.

(1) Bordier H. — Emploi thérapeutique de l'ozone. *Archives d'électricité médicale*, janvier 1901.

Appareils industriels. — Nous avons énuméré jusqu'ici un certain nombre d'appareils de laboratoire. Les dispositifs, dont nous allons nous occuper, ne rappellent aucunement en raison de leurs dimensions et de leur débit, les divers types décrits ci-dessus.

La ville de Lille se sert pour la stérilisation d'une partie des eaux destinées à la consommation d'un appareil inventé par MM. Marmier et Abraham, et situé à Emmerin. Il se compose de deux parties : 1^o d'une installation servant à la production du courant électrique; 2^o d'une autre pour la production de l'ozone. « Le courant électrique est fourni par un transformateur dont le circuit primaire reçoit le courant d'un alternateur actionné par une machine à vapeur. Le circuit secondaire fournit à l'ozoneur des courants à une tension voisine de 40.000 volts. On place en dérivation sur le circuit de haute tension un déflagrateur formé de deux sphères entre lesquelles jaillit une étincelle électrique que l'on souffle continuellement par un courant d'air (1). »

L'ozoneur est constitué de la façon suivante: une électrode, une glace, un intervalle, une glace, une électrode. Les électrodes sont formées de disques en fonte enfermés dans une caisse hermétiquement close; elles sont évidées et soumises à un refroidissement constant grâce à une circulation d'eau froide, que l'on fait tomber goutte à goutte afin de conserver l'isolement parfait. Toutes les électrodes de rang pair sont

(1) Marmier et Abraham. — Procédés pour la stérilisation des eaux par l'ozone.

reliées à un pôle du transformateur, celles de rang impair à l'autre pôle (1). L'air arrivant par une tubulure, traverse les effluves qui jaillissent dans l'intervalle laissé entre des glaces, et le transformant partiellement en ozone, est aspiré par une autre tubulure pour être utilisé dans la chambre de stérilisation.

Nous trouvons une installation analogue à l'usine établie par la Société industrielle de l'ozone aux mines de Boléo (Mexique), où le courant est fourni aux bornes du transformateur par l'une des phases d'une ligne triphasée à 5000 volts (2).

Au congrès de Montauban pour l'avancement des sciences (août 1902), M. H. de Montricher donnait le modèle d'un ozoneur destiné à servir à la stérilisation des eaux de boisson et qui répond au type construit par MM. Marmier et Abraham. Cet appareil serait capable de dégager une proportion d'ozone compris entre 5 et 12 grammes par mètre cube (3).

Appareils thérapeutiques. — Parmi les appareils construits dans un but thérapeutique, nous citerons celui de M. Labbé. Cet appareil se compose d'un tube de verre d'une longueur de 20 centimètres à la surface interne duquel est appliquée une feuille d'étain en relation avec un des réophores d'une bobine de Ruhm-

(1) Calmette. — Stérilisation des eaux potables par l'ozone, 1899. *Annales de l'Institut Pasteur*, 49 février 1899, t. XIII, p. 344.

(2) Marmier et Abraham. — Stérilisation des eaux potables.

(3) H. de Montricher. — Communication au congrès de Montauban, p. l'A. S. *Arch. d'élect. méd.*, novembre 1902.

korff donnant une étincelle de 3 centimètres. Un fil d'aluminium faisant soixante tours de spires sur la longueur du tube à l'extérieur est réuni au second réophore de la bobine; l'air pénétrant par une des extrémités du tube s'ozonise à son passage et sort à l'autre extrémité, où il peut être employé en inhalations par les malades.

La thérapeutique ne dispose pas seulement de cet appareil; les applications de l'ozone ont exigé des systèmes demandant un espace considérable, une installation spéciale et telle que les hôpitaux seuls peuvent en être pourvus. Ainsi M. Otto (1) a construit à l'hôpital Boucicaut, dans le service de M. Letulle, un appareil à grand débit d'ozone.

L'appareil se compose des caractéristiques suivantes : 1° Les électrodes, la moitié au moins est mobile; 2° La décharge électrique se produit directement dans l'air, entre les parties métalliques portées à des potentiels différents sans qu'un diélectrique quelconque soit interposé entre ces derniers.

Pour se rendre compte du fonctionnement des ozoneurs rotatifs, il suffit de considérer deux éléments, respectivement en relation avec les deux bornes d'une source à haut potentiel et placés à une distance telle que l'étincelle ne puisse jaillir. Si un arc se produisait accidentellement pendant la production de l'effluve, cet arc serait coupé. On conçoit que la réalisation de cette succession de phénomènes puisse s'obtenir par plusieurs dispositifs différents.

(1) Otto. Bulletin de la Société, Ing. civils de France (février 1900).

Un des plus simples consiste en deux cercles conducteurs dans lesquels sont découpés une série de secteurs parallèles ou légèrement inclinés comme les ailes d'une hélice. Dans ce cas, l'ozoneur forme lui-même ventilateur. Le centre des deux cercles sont sur le même axe ; les deux cercles sont réunis respectivement à chacun des pôles d'un transformateur à haute tension. Les surfaces en regard sont hérissées de pointes. Un des cercles étant fixe, si l'autre est animé d'un mouvement de rotation, une décharge jaillit chaque fois que les secteurs pleins se trouvent en regard et s'éteint dès qu'ils s'éloignent.

L'ozoneur est essentiellement constitué par une cuve en fonte fixée sur un solide bâti.

Les gaz que l'on veut soumettre à l'action de l'effluve arrivent dans l'appareil par une tubulure et en sortent par une autre tubulure ; sous l'influence des décharges, l'oxygène se polymérise et se transforme en ozone.

Cette installation occupe une partie des sous-sols de l'hôpital Boucicaut. De là, l'air ozoné est amené dans la salle des malades (1).

Appareils courants de haute fréquence. — L'appareil dont nous nous sommes servi est celui de M. H. Bordier. L'ozone est fourni par la machine à courant de haute fréquence de d'Arsonval.

Quand un condensateur se décharge, s'il existe entre la résistance R , la capacité C et la self-induction L ,

(1) Caratzalis. — Des applications thérapeutiques de l'ozone, 1901.

la relation

$$R^2 < \frac{4L}{C}$$

la décharge, au lieu d'être continue, est oscillante, et la période du mouvement vibratoire a pour expression :

$$T = 2 \pi \sqrt{LC}$$

pourvu que R soit négligeable devant

$$2 \sqrt{\frac{L}{C}}$$

Cette décharge oscillante est utilisée en employant le dispositif indiqué par d'Arsonval : on relie les deux armatures internes de deux condensateurs aux bornes d'une bobine de Ruhmkorff, pendant que les armatures externes sont mises en relation avec un solénoïde métallique. On augmente la tension des courants de haute fréquence en plaçant à l'intérieur ou à l'extérieur du premier solénoïde à gros fil, une bobine à fil fin, le tout immergé dans l'huile lourde, ou bien en plaçant à la suite du premier solénoïde un deuxième fil enroulé également en solénoïde, et dont le coefficient de self présente un certain rapport avec celui du premier solénoïde, le dernier dispositif a été imaginé par le Dr Oudin, et est connu sous le nom de résonateur d'Oudin. Ce solénoïde supérieur constituant le résonateur d'Oudin, se termine par un fil en forme de limaçon et effilé à son extrémité, redressée verticalement.

M. H. Bordier s'est servi de cet appareil comme ozoneur : il l'a étudié à ce point de vue spécial, ainsi que les conditions plus ou moins favorables à la production de l'ozone. Ce sont les résultats de ses expériences

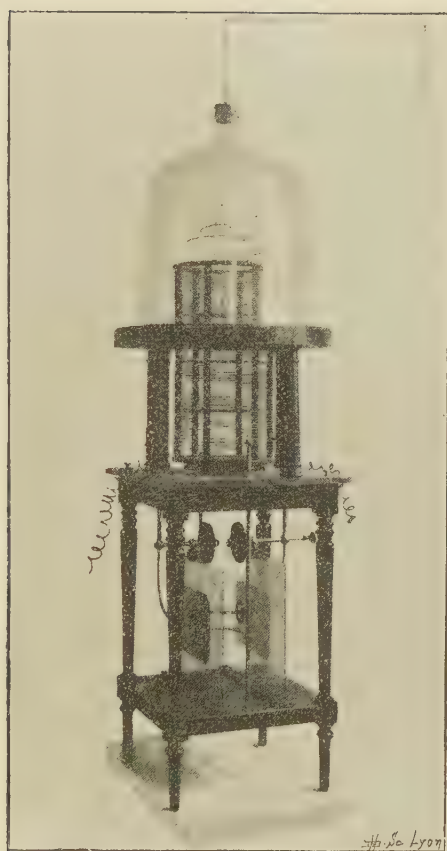


FIGURE 1

Appareil à courants de haute fréquence, de d'ARSONVAL,
transformé en ozoneur par H. BORDIER.

que nous relevons dans son travail. Il s'est servi du dispositif suivant : « Une couronne de bois de 53 centimètres de diamètre extérieur et de 34 centimètres de diamètre intérieur a été montée sur quatre pieds en bois de 33 centimètres de hauteur et reposant sur la plaque de verre servant de table au solénoïde. Sur cette couronne, solidement installée autour du solénoïde, dont elle était distante de 10 centimètres, reposait une grande cloche en verre ayant 40 centimètres de diamètre et 45 centimètres de hauteur. Cette cloche présente une douille à sa partie supérieure, en sorte qu'à l'aide d'un bouchon de liège on pouvait aspirer l'air ozonisé contenu tout autour du solénoïde. »

Un tube de verre à grande section traversait le bouchon paraffiné fermant la douille et faisait communiquer la cloche avec le ballon renversé renfermant une solution arsenicale ; celle-ci était en relation avec un compteur à gaz et une trompe aspirante ».

La proportion d'ozone débitée par cet appareil est susceptible de varier sous l'influence de divers facteurs. Etudions les conditions physiques dans lesquelles ce producteur d'ozone fonctionne.

1° Influence du volume de l'air aspiré :

Voici les résultats donnés par M. Bordier dans six expériences faites avec un voltage de 50 volts et une intensité de 10 ampères.

VOLUME D'AIR ASPIRÉ	OZONE PRODUIT
Litres	Milligrammes
—	—
9.200	2.3
28	7.61
44	29.8
60.500	33.4
90	60.4
96	64.4

L'influence de la ventilation est donc très nette et il y a un renseignement pour les applications thérapeutiques de l'ozone, lorsqu'il s'agit d'ozoniser, par exemple, l'air d'une salle. On ne devra pas laisser l'air entourant l'appareil immobile, mais au contraire produire un brassage de cet air et renouveler rapidement les couches gazeuses qui avoisinent le solénoïde.

2° Influence de l'énergie électrique dépensée dans le courant primaire :

La quantité d'ozone formée est proportionnelle à l'énergie dépensée dans le primaire de la bobine :

	Vol. d'air	Durée	Ozone formée
Courant à 50 volts et 10 amp.	60 lit.	15 ^m	30 milligr.
Courant à 120 volts et 10 amp.	61 lit.	15 ^m	80 milligr.

La distance comprise entre les deux boules du détecteur était la même et égale à 9 millimètres.

3° Influence de l'interrupteur du courant primaire de la bobine :

Trois interrupteurs ont été essayés comparativement :

a) *Interrupteur Ducretet.* — Cet appareil se com-

pose essentiellement d'une tige de cuivre qui plonge dans un bain de mercure recouvert de pétrole et qui subit, au moyen d'un moteur électrique, des mouvements rapides de bas en haut et de haut en bas. On peut se servir de cet interrupteur, soit en employant une source d'électricité différente de celle qui actionne la bobine de Ruhmkorff, soit en prenant une dérivation sur le courant lancé dans le primaire de la bobine.

Il se forme un arc entre les boules du détonateur par suite du petit nombre des interruptions qui a besoin d'être soufflé ; on arrive à vaincre cette difficulté en se servant de la trompe soufflante de Berlemont qui sert à l'aspiration.

	Nombre de litres	Ozone produit
1 ^{re} Expérience.....	134 litres	38 ^{mgr} 8
2 ^e Expérience.....	108 —	28 ^{mgr} 8
Moyenne.....	121 —	33 ^{mgr} 14

b) Interrupteur Wehnelt-Carpentier. — Cet interrupteur possède une électrode de platine que l'on peut régler à volonté au moyen d'une vis : elle est entourée d'un tube placé à son sommet d'un orifice que traverse le platine : en agissant sur la vis, on fait dépasser le platine en dehors du tube d'une longueur voulue.

M. H. Bordier a apporté à l'appareil le perfectionnement suivant : il fit construire un vase en plomb reposant par ses bords sur un disque en verre placé lui-même sur un cristalliseur. Ce dernier a été percé de deux orifices, l'un en bas, l'autre en haut pour permettre l'arrivée et le départ d'eau froide.

L'eau acidulée à 20 % étant placée dans le vase de

plomb, la pièce constituant le système Carpentier était maintenue par un couvercle en fibre végétale : sur le bord du vase en plomb était fixée une bourre servant à relier ce vase au pôle négatif. Le refroidisse-

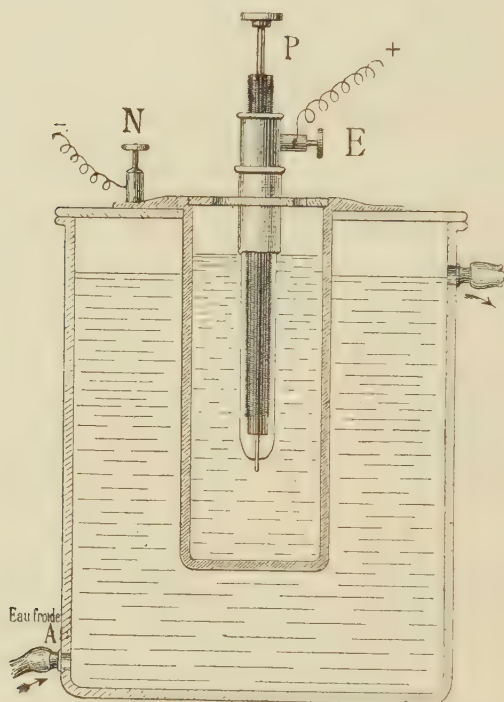


FIGURE II

Interrupteur Wehnelt-Carpentier
modifié par H. BORDIER

ment de l'appareil au moyen de l'eau froide est indispensable ; lorsque la température de l'électrolyte s'élève trop et lorsqu'on emploie un voltage élevé, l'interrupteur de Wehnelt cesse de fonctionner.

Voici les résultats obtenus avec cet appareil :

1 ^{re} expérience.....	110 litres	72 ^{mgr} 9
2 ^e expérience.....	136 —	83 ^{mgr} 5
Moyenne	123 —	78 ^{mgr} 2

c) *Interrupteur Wehnelt simple.* — On construit soi-même cet interrupteur en soudant un bout de fil de platine à un tube de verre effilé que l'on remplit de mercure. Ce tube maintenu par un disque de bois est placé dans l'eau acidulée à 20%. Le refroidissement est produit comme précédemment au moyen d'eau froide. Les quantités d'ozone étaient les suivantes :

	Nombre de litres	Ozone formé
1 ^{re} expérience.....	131 litres	158.4
2 ^e expérience	134 —	168
Moyenne	132 —	162.2

Si nous comparons le rendement en ozone pour chacun des trois interrupteurs que nous avons étudiés nous verrons, que le système Wehnelt simple est capable de fournir les quantités les plus considérables.

Interrupteur de Ducrelet	33.4 milligr.	
— Wehnelt-Carpentier..	78.2	—
— Wehnelt simple.....	163.2	—

4^o *Influence des aigrettes partant du fil terminal :*

Les aigrettes peu apparentes lorsque la cloche est dépourvue d'enveloppe métallique, sont rendues beaucoup plus nourries en recouvrant la cloche sur sa face externe d'une feuille de papier d'étain mise en communication avec le sol. Voici le résultat de l'expérience :

	Air aspiré	Ozone produit
Cloche nue	90 lit.	60 milligr.
Cloche recouverte d'étain.	90 lit.	24.75 —

Pour obtenir le maximum d'ozone, il faut donc que les aigrettes soient rendues le plus obscures possible.

5° *Influence de l'énergie électrique dépensée* :

Voici les nombres obtenus en faisant varier l'intensité et le voltage :

ÉNERGIE ÉLECTRIQUE		
INTENSITÉ	VOLTAGE	OZONE
Ampères	Volts	Milligrammes
8	43	23.24
9.5	60	62.4
12	95	80
15	110	103

La simple manœuvre du curseur du rhéostat permet donc de graduer la quantité d'ozone formé. C'est là une grande supériorité de plus sur les autres ozoneurs décrits.

6° *Influence de la longueur des étincelles du détendeur* :

DISTANCE DES BOULES	OZONE PRODUIT
Millimètres	Milligrammes
4	13.2
9	33.4
17	80
23	123.4

La quantité d'ozone produite est d'autant plus considérable que :

1° La vitesse de l'air circulant autour du solénoïde est plus grande ;

2° L'énergie électrique dépensée dans le primaire de la bobine est plus considérable ;

3° L'on emploie un interrupteur du courant primaire du type Wehnelt simple ;

4° Les décharges sont plus obscures ;

5° Les boules du détonateur sont plus éloignées ;

6° L'énergie électrique dépensée est plus grande.

Tous les avantages que nous avons énumérés font donc de l'appareil à courants de haute fréquence avec le solénoïde d'Oudin, l'ozoneur le plus simple et le plus commode que le médecin électricien ait à sa disposition.

Après l'énumération et la description des différents appareils producteurs d'ozone que nous venons de passer en revue, il nous est possible de résumer dans le tableau suivant les divers types que nous avons rencontrés. Nous diviserons donc les appareils à ozones en quatre grandes classes :

1° Ceux qui ont pour but de faire connaître un moyen producteur de l'ozone ; ce sont les procédés chimiques et les machines statiques ; la quantité dégagée échappe à toute évaluation mais peut être décelée par l'odorat ;

2° Ceux qui se rapportent surtout à l'étude des propriétés chimiques de ce gaz ; tels sont les appareils de M. Siemens, de Thénard, de Berthelot, de Tysley ;

3° Ceux qui concernent les propriétés désinfectantes et bactéricides de l'ozone et le rôle de ce gaz dans les épidémies ; nous avons cité l'appareil du type Houzeau, modifié par M. Chatelain ;

4° Ceux qui ont pour but la stérilisation des eaux destinées à l'alimentation ; ils comprennent les installations industrielles comme celle qui fut construite par MM. Marmier et Abraham ;

5° Ceux qui ont trait à l'action thérapeutique de l'ozone ; tels sont l'appareil de M. Labbé et le dispositif de M. Otto.

L'appareil à courants de haute fréquence de M. Bordier joint à l'avantage de fournir à volonté des quantités considérables et graduables d'ozone, les ressources de pouvoir servir dans les études expérimentales et de trouver son emploi en thérapeutique.

CHAPITRE II

Réactifs de l'ozone

Le premier réactif de l'ozone est l'odorat ; grâce à nos sensations olfactives nous pouvons déceler des quantités infinitésimales d'ozone, mais aussi nous sommes incapables de les mesurer. L'odorat n'a donc que la valeur d'un réactif qualitatif extrêmement sensible.

Les propriétés oxydantes de l'ozone permettent de le reconnaître très facilement.

Ainsi le papier d'oxyde de thallium se suroxyde dans une atmosphère ozonisée. La teinture de gaïac vire au bleu sous l'action de l'ozone. Le papier de tétraméthylparaphénylènediamine :



se colore facilement en bleu violet par les tracas d'ozone. Ce corps jouit de la propriété de déplacer l'iode de l'iodure de potassium. Ce fait est le principe

de la méthode de Schönbein pour rechercher l'ozone dans l'atmosphère.

Le papier dit de Schönbein imprégné d'amidon et d'iodure de potassium, se colore en bleu en présence de l'ozone par suite de mise en liberté d'iode qui donne à l'amidon la teinte caractéristique.

Les auteurs et en particulier M. Bordier, ont remarqué que la sensibilité du papier amido ioduré était supérieure à celle de la solution pour les doses infinitésimales d'ozone.

Dosage de l'Ozone

L'action de l'ozone varie suivant sa proportion. Les auteurs qui se sont occupés des propriétés de l'ozone et particulièrement de son influence bactériologique, ont trop souvent omis de doser les quantités qu'ils employaient. Quand les dosages ont été effectués, ils étaient basés sur des procédés trop approximatifs. Cette absence d'évaluation des quantités, parfois aussi l'imperfection des moyens préconisés par les expérimentateurs rendent la comparaison de leurs résultats très difficile.

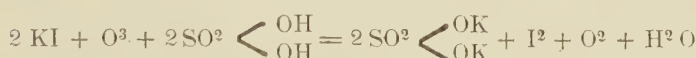
1° L'échelle de coloration de Schönbein est le procédé le plus souvent cité ; c'est aussi le plus ancien et le plus susceptible de causer des erreurs. La proportion d'ozone est mesurée par l'intensité de la couleur bleue que produit la décomposition de l'iodure de potassium. A chacune des dix teintes constituant une

échelle de coloration correspond une certaine quantité d'ozone.

2° La mise en liberté de l'iode provenant de l'iodure de potassium peut encore servir de base au procédé suivant :

On fait passer un courant d'ozone dans l'iodure de potassium. On chasse l'iode libéré et on titre par un acide normal l'alcalinité résultante.

3° Le procédé Otto consiste à faire passer l'air ozonisé dans une solution d'iodure de potassium en présence de l'acide sulfurique. Il convient d'avoir les proportions :



Soit 166 IK pour 98 SO²H².

L'iode libéré est titré par S²O³Na².

4° Schœnbein agitait l'air ozonisé avec de la teinture d'indigo titrée dont 100 grammes étaient décolorés par 1 milligramme d'ozone. L'indigo bleu sous l'influence de O³ devient indigo blanc.

5° Houzeau faisait passer l'air ozonisé dans une solution iodo-iodurée contenant un excès d'acide titré. Il chassait l'iode par ébullition, dosait l'excès d'acide et déduisait le taux de l'ozone.

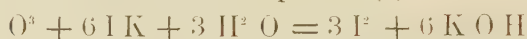
6° Thénard agitait l'air ozonisé avec une solution chlorhydrique de As² O³ et titrait l'excès de As² O³ par le permanganate de potasse.

7° L'iode, mis en liberté par la décomposition de l'iodure de potassium, peut aussi se titrer par l'hypo-sulfite de soude en présence d'empois d'amidon comme

réactif limite. Il se produit de l'iodure de sodium et du tétrathionate de soude :



8° Le procédé de dosage qu'ont employé MM. Bordier et Bost repose sur l'oxydation de l'acide arsénieux par l'ozone en présence de l'iodure de potassium. « Lorsqu'on fait passer un courant d'air ozonisé dans une solution alcaline d'acide arsénieux en présence d'iodure de potassium, l'ozone oxyde l'iodure, d'où la formation de potasse et d'iode libre qui transforme l'acide arsénieux en acide arsénique : » (1)



L'iode joue donc le rôle d'intermédiaire entre l'ozone et l'acide arsénieux.

« Dès lors la quantité d'acide arsénieux transformé en acide arsénique dépend de la quantité d'iode mis en liberté et par suite de la quantité d'ozone contenu dans l'air. Si l'on dose dans la solution la proportion d'acide arsénieux avant et après le passage de l'ozone dans une solution titrée d'iode, la différence représente l'acide arsénieux oxydé d'où l'on déduit facilement la quantité d'ozone. » (2)

Les solutions titrées sont : 1° une solution décimormale d'acide arsénieux (en solution alcaline) ; 2° une solution centinormale d'iode dont chaque centimètre-cube produit la même oxydation que 0 gr. 0024 d'ozone.

(1) Bordier (H.). — *Arch. d' élect. méd.* 15 février 1901.

(2) Bost. (F.). — Toxicologie de l'ozone. — Thèse de Lyon, 1901.

La liqueur dans laquelle barbote l'air ozonisé a la composition suivante :

100 cc. de la solution $\frac{N}{400}$ d'acide arsénieux.

5 cc. d'une solution d'iodure de potassium à 10 %.

.95 cc. d'eau distillée.

Total 200 cc.

Avant chaque série d'expériences, on prélève 5 centimètres cubes du liquide arsenical, et on détermine en présence de l'empois d'amidon le nombre de centimètres cubes de la solution $\frac{N}{400}$ d'iode nécessaire pour les oxyder complètement. Après une expérience on prélève 5 centimètres cubes du liquide où a barboté l'air ozonisé et on détermine encore le nombre de centimètres cubes d'iode $\frac{N}{400}$ nécessaires pour achever l'oxydation. Ce nombre, inférieur au premier, donne par différence une somme M représentant le nombre de centimètres cubes de solution centinormale d'iode nécessaire pour produire le même effet que l'ozone formé. Or l'on sait que chaque centimètre cube de solution $\frac{N}{400}$ d'iode se comporte comme 0 gr. 00024 d'ozone. Donc :

$$M + 0,00024$$

donne le poids de l'ozone contenu dans l'air ozonisé.

La quantité d'air ozonisé est mesurée par un compteur ; elle est aspirée par une trompe à eau et barbote dans le flacon laveur contenant la liqueur arsenicale. Ce flacon laveur est constitué par un ballon à col très long, renversé et disposé de telle sorte que la liqueur

ne puisse être entraînée vers la trompe d'eau et que l'air ozonisé ait à traverser une haute colonne de liquide, se dépouillant ainsi de la totalité de l'ozone qu'il renfermait.

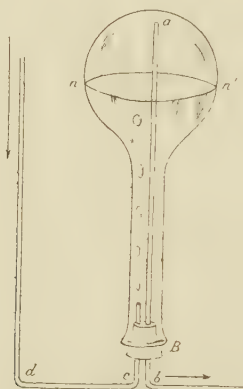


FIGURE III

Ballon renversé pour le dosage de l'ozone

Nous avons passé en revue dans un chapitre précédent un certain nombre de types d'appareils producteurs d'ozone.

Plusieurs auteurs, et particulièrement M. Bordier, ont déterminé comparativement les quantités fournies par ces différents appareils.

1° Quand on s'adresse à une machine statique, la quantité d'ozone est extrêmement faible. Elle est incapable de faire passer au bleu une solution amido-iodurée : provenant d'une machine Whimshurst modifiée par Bonetti, la quantité de 232 litres d'air ozonisé barbotant dans la liqueur d'iodure de potassium amido-donné au titre de 10 % n'a pas donné trace de coloration bleue, bien que l'on perçut à l'odorat la présence

d'ozone dans l'atmosphère de la salle. La teinte a apparu très nette sur une feuille de papier amidonné et imprégné de la solution d'iodure de potassium. Cette feuille de papier fut placée devant la pointe négative de la machine électrique. Au bout de 15 minutes, un cercle bleu se dessinait sur le papier.

Pour doser la quantité d'ozone dégagée par la machine statique, MM. Bordier et Crolas se fondèrent sur la décoloration de l'iodure d'amidon par l'hypo-sulfite de soude. De la quantité d'hyposulfite employée et calculée au moyen d'une solution décimale d'iode, ils voulurent que la proportion d'ozone fourni en 10 minutes était égale à 0 gr. 000144. De plus, ils déterminèrent que la quantité d'ozone est la même au pôle positif qu'au pôle négatif.

Que peut-on attendre de ce gaz, produit en quantité si infinitésimale ? En cherchant la proportion d'ozone contenu dans un litre d'air et en supposant une ventilation de 150 litres en 10 minutes, on trouve le nombre de 0 gr. 00000093 !

2° Avec les appareils du type Houzeau, la quantité d'ozone devient plus considérable, bien qu'elle soit encore bien minime.

Pour déterminer le débit de son appareil, M. Labbé fit circuler l'ozone dans quatre flacons contenant chacun une dissolution d'iodure de potassium. De la quantité d'iode libéré, il déduisait le taux de l'ozone. Voici les nombres donnés par cet auteur :

1 ^{er} flacon.....	0 ^{mg} 11449
2 ^e —	0, 11489
3 ^e —	0, 10111
4 ^e —	0, 10159

Il obtenait en 40 secondes 1/10 milligramme d'ozone par litre d'air, soit pour une séance de 15 minutes 2^mgr 1/2 d'ozone (1).

3^o L'appareil d'Houzeau fut perfectionné par M. Chatelin. M. H. Bordier a calculé, au moyen du procédé que nous avons décrit (p. 34), la quantité capable d'être fournie par cet appareil. Il actionnait cet ozoneur par une bobine de Ruhmkorff moyenne dont le primaire était en relation avec deux piles au bichromate. Deux expériences successives donnèrent les résultats suivants :

	Litres	Quantité d'ozone
1 ^{re} expérience.....	396	0 ^{gr} 00492
2 ^e expérience.....	164	0 ^{gr} 0048

La quantité par litre est de 0^mgr 03. Si l'on compare ce nombre avec celui qui est donné par M. Labbé dans les expériences faites avec un ozoneur Houzeau, on s'aperçoit que la proportion a été trouvée plus forte par cet expérimentateur, mais il faut remarquer que la vitesse du courant était très faible, 1 litre en 40 secondes. On peut juger par ce fait de l'influence que peut exercer sur la quantité de l'ozone dégagé, la vitesse de la circulation de l'air.

« Si l'on cherche quelle est l'aspiration que produirait un sujet qui aspirerait l'air ozonisé de l'appareil, on trouve le chiffre de 10 litres environ par minute, puisque l'air courant est égal à 500 centimètres cubes et que l'on fait environ vingt mouvements respira-

(1) Caratzalis. — Des applications thérap. de l'ozone. Th. de Paris, 1900.

toires par minute. Cette vitesse donne dans les conditions énumérées ci-dessus, un taux d'ozone d'environ 0^{mgr} 012 par litre d'air aspiré. C'est là une proportion vraiment faible, trop faible pour obtenir des effets physiologiques sensibles. »

4° L'appareil à haute fréquence est certainement l'appareil de laboratoire capable de fournir des quantités nettement appréciables, évaluables et effectives d'ozone. Si nous comparons en effet le nombre indiquant la proportion d'ozone obtenu par l'appareil de M. Chatelin, soit en moyenne 3^{mgr} 36 en une demi-heure avec la quantité donnée par l'appareil à haute fréquence et évaluée par M. H. Bordier égale dans certaines conditions à 163^{mgr} 2 en dix minutes, nous pouvons facilement apprécier la supériorité incontestable de ce dernier sur les précédents.

D'après les notions que nous avons acquises sur le dosage de l'ozone, nous pouvons donc conclure avec M. J. Baur, que :

1° La machine statique est un ozoneur illusoire. La production est infinitésimale et ne saurait avoir une influence quelconque, soit physiologique, soit thérapeutique.

2° Les ozoneurs du type Houzeau donnent une quantité d'ozone appréciable, mais cette quantité est rendue trop faible par son mélange forcé avec l'air respiré.

3° Les appareils à courants de haute fréquence sont, eux, capables de donner un rendement d'ozone considérable que l'on peut faire varier à volonté suivant les effets que l'on en attend.

CHAPITRE III

Ozone atmosphérique

Schoenbein, le premier, s'appuyant sur les indications du papier amido-ioduré, avança que l'ozone était un des éléments de l'atmosphère.

Les nombreux observateurs qui le suivirent, parmi lesquels nous citerons Beckel, Scoutetten, Houzeau (1) adoptèrent les mêmes conclusions.

D'ailleurs ne sait-on pas depuis longtemps déjà que lorsque la foudre tombe sur quelque édifice, on perçoit dans un certain périmètre une odeur particulière analogue à celle que développent les machines électriques et qui n'est autre que celle de l'ozone ?

La proportion d'ozone contenue dans l'atmosphère ne dépasse jamais 1/700,000 en volume et 1/450,000 en poids.

(1) Houzeau. — *Annales de physique et de chimie*, 1880.

En 1876, M. Berthelot (1) a démontré la formation de l'ozone sous l'influence des faibles tensions électriques comparables à celles qui se développent incessamment dans l'atmosphère (2).

Pendant quelque temps, on a considéré la fonction chlorophyllienne comme une importante source d'ozone. C'est Scoutetten le premier qui avait admis qu'une partie de l'oxygène émis par des plantes se transforme en ozone. Mais Cloëz (1856), Bellucini (1874) et Marié (1880) combattirent cette assertion. « Si les plantes dans leurs conditions normales d'existence dégagent de l'ozone, cet ozone est certainement détruit par les produits exhalés simultanément (3).

D'après Scoutetten, il se formerait de l'ozone dans l'évaporation de l'eau.

L'ozone semble se produire en plus grande quantité la nuit que le jour, surtout en hiver (4).

La quantité varie également avec les saisons.

D'après Houzeau (5), on pourrait diviser l'année en ce qui concerne la proportion d'ozone contenu dans l'atmosphère : une saison de 78 jours au printemps et en été, pendant laquelle l'ozone serait très abondant ; une saison de 32 jours en automne et en hiver, pendant laquelle la quantité d'ozone est plus faible (6).

(1) Berthelot. — *Annales de chimie et de physique*, t. XIV, 352.

(2) Marié. — De l'ozone. Thèse de Paris, 1880.

(3) Le Stunf. — De l'emploi de l'ozone dans la tuberculose pulmonaire. Thèse de Paris, 1891.

(4) Jager. — *Jahresbericht*, 1852, t. XIV, p. 354.

(5) Sainte-Claire-Deville. — *Compte-rendu de l'Acad. sciences*, 1865, t. LX, p. 909.

(6) Lévy, A. — *Compte-rendu de l'Acad. sciences*, t. LXXXVII, p. 4260.

De nombreuses expériences ont permis d'établir que l'ozone se trouve en plus grande abondance à la campagne que dans les villes, dans le voisinage de la mer qu'à l'intérieur des terres.

La quantité d'ozone atteint son maximum quand soufflent les vents humides du sud-ouest; quand le centre d'une bourrasque traverse la France, toutes les stations situées au sud de la trajectoire ont beaucoup d'ozone, celles qui sont au nord en ont peu ou point.

Hjaltatin, médecin irlandais, a constaté que pendant les aurores boréales, il y avait surproduction d'ozone.

Dans la même localité, la quantité d'ozone varie avec la hauteur au-dessus du sol. Il paraît aujourd'hui admis que l'ozone est plus abondant dans les hautes altitudes. « Beckel pensait que l'ozone ne se forme qu'à une certaine hauteur, d'où impossibilité de le constater dans les couches inférieures de l'atmosphère. Cependant, si l'ozone est plus lourd que l'air, partout où il se produira, il finira toujours par gagner les points les plus déclives. Comme il est très oxydant, il est évident que là où il rencontre des matières organiques il disparaîtra presque instantanément (1).

Nous verrons plus loin le rôle qu'ont voulu faire jouer les auteurs à l'action de l'ozone atmosphérique dans l'étiologie et l'évolution des maladies.

(1) Delahousse.— L'ozonisation artificielle, *Gazette des hôpitaux*, 25 mars 1862.

CHAPITRE IV

Propriétés de l'Ozone

Propriétés physiques. — L'ozone se révèle dans l'atmosphère par son odeur forte et pénétrante. Cette propriété lui valut son nom (Oζω : je sens).

Sa densité est 1,656. Elle fut déterminée par Ladenbourg, qui mesura la densité du mélange d'oxygène et d'ozone et dosa l'ozone par l'iode, mis en liberté dans l'iodure de potassium et titré par l'hyposulfite de soude.

Ce gaz, qui paraît incolore dans une petite épaisseur, est en réalité d'une belle couleur bleue, qui rappelle celle du ciel. Il suffit, pour la rendre manifeste, d'interposer entre l'œil et une surface blanche un tube de 2 mètres de long, traversé par un courant très lent d'oxygène ozonisé.

Comprimé lentement à 0°, l'ozone devient bleu d'azur, et cette coloration s'accroît au fur et à mesure qu'on réduit le volume du gaz.

On peut obtenir l'ozone liquéfié en gouttelettes d'un

bleu indigo, sous l'effet d'une détente consécutive à une pression de 125 atmosphères à la température de — 105°. (Hautefeuille et Chappuis.)

Propriétés chimiques. — L'ozone est formé de trois volumes d'oxygène, condensés en deux volumes. Il se décompose à 250°, quand il est sec; à 100°, quand il est humide. Plusieurs corps le décomposent, sans subir d'altération; tels sont: le charbon en poudre, l'argent, l'oxyde de cuivre et le bioxyde de manganèse.

Ce gaz possède des propriétés oxydantes bien supérieures à celles de l'oxygène.

L'ozone sec oxyde l'iode. L'ozone humide oxyde à froid, non seulement les métaux facilement oxydables comme le fer, l'étain, le plomb, mais encore le mercure et l'argent, en les faisant passer au maximum d'oxydation. Du mercure agité dans un flacon plein d'oxygène ozonisé humide, s'oxyde et s'attaque aux parois en formant un dépôt miroitant. Une lame d'argent, exposée dans les mêmes conditions, se recouvre d'un oxyde noir hydraté (1). Il oxyde l'alcool et l'éther en produisant de l'eau oxygénée.

L'ozone attaque rapidement le caoutchouc; il décolore l'indigo.

Action physiologique. — L'action intime de l'ozone est de suroxygéner l'organisme. Sous son influence, l'alimentation semble recevoir un coup de fouet. Le poids augmente dans les intervalles séparant les séries

(1) Troost. — *Traité de Chimie.*

d'inhalation. Ce gaz ne peut exister en présence de la matière organique au niveau du poumon, il doit repasser à l'état d'oxygène, qui se trouve alors dans une plus grande proportion que normalement dans l'air courant. Ce qui le prouve, c'est la courbe des mouvements respiratoires : cette courbe monte pendant l'inhalation, pour retomber après elle plus bas que normalement. L'organisme, suroxygéné, n'éprouve plus le besoin d'un apport aussi considérable d'oxygène, le nombre des mouvements respiratoires diminue. Ce phénomène ne se produit que si l'inhalation est faite à dose thérapeutique ($0^{\text{mgr}} 3$ par litre — H. Bordier); sinon, il y a irritation et congestion pulmonaire.

Quand l'inhalation, sans être nocive, dure cependant trop longtemps, il y a une élévation notable de la température centrale.

L'action de l'ozone sur la valeur globulaire du sang, étudiée soit sur des animaux, soit sur des animaux artificiellement anémiés, par saignée, est nulle (1).

Toxicité. — L'ozone possède une toxicité, qui n'est pas comparable à celle des autres gaz et qui est due à une action irritante.

La quantité nécessaire pour déterminer la mort n'est pas la même pour tous les animaux sous le même poids. Ainsi, M. F. Bost, expérimentant sur le cobaye, le lapin et le chien, a trouvé que les doses toxiques pour

(1) J. Baur. — Étude expérimentale de l'ozone et de son action physiologique.

chacun de ces animaux, et par kilogramme, étaient les suivantes :

	1 ^{re} expérience	2 ^e expérience
Cobaye	60mgr 459	50mgr 749
Lapin	55 , 125	57 , 017
Chien	68 , 866	53 , 586

Cet auteur démontre également que la dose toxique diminue rapidement quand l'atmosphère devient plus riche en ozone, et réciproquement (1).

Une partie de l'ozone, absorbée par les animaux, sert donc à fournir l'oxygène nécessaire aux phénomènes de nutrition, tandis que la plus grande partie produit des oxydations nuisibles.

Les effets toxiques sur l'organisme, observés par M. J. Baur dans ses expériences, ont consisté en une congestion pulmonaire intense, provoquant de l'œdème aigu du poumon et de l'emphysème, lésions qui expliquent l'aspect asphyxique du sang.

(1) F. Bost. — Toxicologie de l'ozone.

CHAPITRE V

Propriétés Bactériologiques

Dès que Schoenbein eut découvert l'ozone, les auteurs ont tenté d'appliquer l'action oxydante de ce gaz tout d'abord à la désinfection, et plus tard à la destruction des germes morbides. Les notions que nous possédons sur cette question reposent sur des observations cliniques et sur des faits d'expérience; les découvertes auxquelles donnèrent lieu cette étude furent parfois assez concluantes pour amener les médecins et les hygiénistes à employer l'ozone comme agent thérapeutique.

Si l'on envisage la question de la valeur antiseptique de l'ozone depuis 1840 jusqu'à nos jours, on est tout d'abord frappé de la divergence d'opinions qui existe entre les auteurs : les uns affirmaient que ce corps devait détruire les germes répandus dans l'atmosphère, prévenir ou chasser les épidémies. Les autres niaient toute influence sur la cause et la marche des épidémies. Parmi les expérimentateurs, certains sou-

tenaient que l'action de l'ozone sur les microbes était hors de conteste, d'autres lui refusaient un rôle bactéricide quelconque.

Il est intéressant de parcourir la littérature médicale à ce sujet et d'analyser l'opinion des auteurs sur cette question.

Certes, les avis reposent bien souvent sur des principes erronés. Ne voulant cependant négliger aucun élément susceptible d'apporter quelque éclaircissement, nous relèverons impartialement les données acquises, nous réservant d'en apprécier la valeur scientifique.

Les phénomènes allégués pour expliquer l'action bactériologique de l'ozone peuvent se grouper sous trois chefs :

- 1^o Faits d'observation ;
- 2^o Résultats thérapeutiques ;
- 3^o Données expérimentales.

Nous exposerons rapidement les deux premières parties de cette question ; nous insisterons plus longuement sur l'article concernant les résultats que nous a laissés l'expérimentation.

I

FAITS D'OBSERVATION

L'ozone atmosphérique a-t-il une influence sur les bactéries et partant sur l'étiologie des maladies ? Sur ce point, les avis ne concordent pas. Certains auteurs, observant d'une part la marche des épidémies, et

d'autre part mesurant, ou quelquefois relevant simplement l'ozone contenu dans l'air s'efforcèrent d'établir une relation de cause à effet entre la proportion d'ozone et le nombre de cas constatés.

Disons immédiatement que la quantité d'ozone que renferme l'atmosphère nous paraît bien minime pour exercer une action efficace sur les causes morbides, soit que ce gaz exerce son influence en augmentant les échanges nutritifs, soit qu'il s'attaque directement aux microbes eux-mêmes.

Est-il plus exact que l'ozone de l'air soit capable d'irriter l'appareil respiratoire au point d'être considéré lui-même comme un élément pathogène? Nous ne le pensons pas.

Toutefois examinons rapidement les opinions qui furent émises sur ce sujet.

Schoenbein accusait l'ozone de provoquer l'inflammation de la muqueuse bronchique. Cette idée est conforme à celle de la Rive qui voit dans l'ozone atmosphérique la cause de la grippe, et de Foveau de Courmelles (1) qui fit en 1890, la même constatation en Belgique.

Il est évident que les inhalations d'ozone à dose élevée provoquent la toux et déterminent même une bronchite assez grave, ainsi que le démontre M. H. Bordier dans ses expériences personnelles (2).

En 1878, Pietra Santa (3) avait remarqué qu'en

(1) Foveau de Courmelles. — *Indépendance médicale belge*, 1890, p. 265.

(2) Bordier (H.). — *Archives d'elect. méd.*, février 1901 p. 95.

(3) Pietra Santa. — *Journal d'hygiène*, 1878.

Algérie, où les maladies de l'appareil respiratoire sont rares et bénignes, la proportion d'ozone est moins élevée.

On a considéré l'ozone comme une cause adjuvante de la malaria. Nous croyons cependant qu'il ne faut pas ajouter grand crédit aux observations de Gailard (1854) qui établit un rapport entre la recrudescence des fièvres palustres et l'augmentation de l'ozone dans l'air. Nous ne pouvons davantage souscrire à l'idée avancée par Poureau (1), qui admet que la présence de l'ozone dans l'atmosphère constitue une des causes principales de la fièvre pernicieuse.

E. Boeckel (1854) et Onimus (2) (1884), reconnaissent à l'ozone le rôle de chasser les épidémies de choléra. Lorsqu'en 1854 le choléra éclata à Strasbourg, Boeckel fut frappé du manque presque absolu d'ozone atmosphérique pendant les premiers temps de l'épidémie. « En 1855, il établit la même coïncidence : dans la nuit du 14 au 15 janvier, l'ozone a reparu, et partir de là, aucun nouveau cas de choléra n'a plus été constaté jusqu'à la journée du 20. Mais dans la nuit du 18 au 19, l'ozone a de nouveau reparu, car l'ozonomètre marquait de nouveau zéro ; ainsi, c'est avec cette date que coïncide la recrudescence cholérique (Coureaux de Thann).

D'autre part, Voltini observe qu'à Falkenberg, où la quantité d'ozone est considérable, on n'observe aucun cas de choléra.

(1) Cl. Bernard. — Sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses, 11 avril 1856.

(2) Onimus. — Ozone et choléra. *Gazette hebdomadaire de Médecine et chimie*, 1884.

Cook (1), à Bombay, conclut, d'après les observations prises dans seize hôpitaux, que l'épidémie de choléra décroît quand la proportion d'ozone augmente.

II

RÉSULTATS THÉRAPEUTIQUES

Les effets thérapeutiques de l'ozone peuvent servir à expliquer l'action de ce gaz sur les bacilles. Comme cette question est encore à l'étude, il est difficile de déterminer la part qui revient, dans les essais qui furent tentés, à l'influence de ce gaz sur la nutrition et celle qui relève du rôle bactéricide.

Il est évident que sur certaines affections, l'ozone agit en augmentant les échanges et en favorisant les oxydations. C'est pour cette raison qu'il fut proposé, dès 1864, par Scelles de Montdesert (2) dans le diabète et la goutte. Dans ces maladies, dites « par ralentissement de la nutrition », il facilite la transformation en acide carbonique et en eau du sucre de nos aliments et de celui que forme le foie. »

Maintes fois, l'ozone fut préconisé contre la tuberculose locale et le cancroïde. Schmidt (1888), Stern, Kispert de Madrid, Beredsen (3) l'employèrent successivement.

(1) Cook. — *Journal d'hygiène*, 1878.

(2) Scelles de Montdesert. — *Bulletin de l'Académie de médecine* 1864.

(3) Beredsen. — *Der praktischer Arts*, 1889.

Il est peu de traitement qui ait trouvé leur application dans plus d'affections diverses que l'ozone : Lender, en 1870, fait même de l'eau ozonisée le remède universel.

Menière (1) emploie l'*ozonéine* (eau ozonisée) dans dix-huit cas d'otorrhée. Beredsen soigne par ce procédé une foule d'affections : le rhumatisme, la blennorragie, voire même l'hystérie. Otto Ringh (1890) se sert d'une dissolution d'ozone dans l'huile de citron, mélange qu'il appelle « antibactericon », et traite avec ce liquide la diphtérie et la variole. Les solutions d'ozone furent encore proposées contre le croup par Williams (de Boston) en 1892, et contre les pharyngites par Le Tanneur (1899).

Quant aux inhalations, MM. Morton et Park (2) les essayèrent dans des cas de bronchite et de catarrhe nasal et obtinrent quelques succès. MM. Labbé et Oudin (3) ont traité également, grâce à ce moyen, des cas d'anémie et observé une certaine amélioration. A propos du traitement de l'anémie, nous ferons remarquer qu'il nous paraît démontré par les expériences de M. J. Baur que l'ozone n'a aucune action sur l'augmentation du nombre des globules sanguins.

Certes, les propriétés thérapeutiques de l'ozone ont été exagérées par beaucoup d'auteurs. Les traitements

(1) Menière. — *Ann. des maladies de l'oreille*, 1885, n° 3.

(2) Morton et Park. — *Ozone and its uses in medicine*. *New York med. Journ.*, 25 juin 1894.

(3) Oudin et Labbé. — *Action physiologique et thérapeutique de l'ozone*. *Congrès international d'électrobiologie et de radiologie médicales*, 1902.

que nous avons énumérés ont donné des résultats variables, et, le plus souvent, après un temps de vogue sont tombés dans un juste oubli.

Les affections qui furent le plus heureusement combattues par les inhalations d'air ozonisé sont la tuberculose et la coqueluche. En 1886, E. de Renzi traita par ce moyen treize phthisiques et obtint quelques résultats heureux. Nous trouvons également une amélioration sensible dans cinq cas traités par Collart (1), de Liège. En 1893, MM. Labbé et Oudin communiquèrent à l'Académie de médecine trente-huit cas de tuberculose sur lesquels le traitement par l'ozone a amené quinze guérisons et dix-neuf améliorations. Norris (2) (1893) constate également que sept cas sur quinze de phthisie sont amendés. Slétoff (3) obtint de nombreux succès sur cent quarante-un tuberculeux qu'il soigna de cette façon. Gessler (4) cite l'observation de vingt-deux phthisiques, dont neuf seulement succombèrent; les autres, atteints au premier et au second degré, guériront complètement après un an et demi ou deux ans de traitement.

Dans la coqueluche, les résultats furent assez brillants. Les quintes de toux sont rapidement modifiées, non seulement comme fréquence, mais comme intensité et durée. L'angoisse respiratoire et la cyanose

(1) Collart. — Traitement de la tuberculose pulmonaire par les inhalations d'ozone. *Ann. de la Société méd. chirurg. de Liège*, nov. 1891, p. 377.

(2) Norris. — *The Lancet*, 3 nov. 1893.

(3) Slétoff. — *Medicinskoye obozrénie*.

(4) Gessler. — *Zeitschrift des Stuttgarten*, 1897.

deviennent presque nulles et les vomissements disparaissent. » M. Delherm (1), qui préconise ce mode de traitement, cite à l'appui de son opinion de nombreux cas de guérison rapide.

M. Bordier (2) s'est également occupé de cette question : dans les cas observés, l'ozone a amené une grande diminution du nombre des quintes. Les résultats ont été très encourageants, et il est permis de fonder sur cette méthode de traitement les plus grandes espérances.

III

DONNÉES EXPÉRIMENTALES

A mesure que se multipliaient les observations et les méthodes de traitement par l'ozone, les expériences de laboratoire suivaient parallèlement leur cours. La clinique s'aidait du contrôle bactériologique.

Nous pouvons diviser l'étude de l'historique de cette question en deux parties :

1^o L'une rappelant les expériences sur la valeur désinfectante de l'ozone :

2^o L'autre relatant les essais qui furent tentés pour démontrer ou pour nier son rôle microbicide.

1^o Schoenbein le premier s'aperçut des propriétés antiputrescibles de l'ozone. Ayant placé un morceau

(1) Delherm. — Action de l'ozone sur la coqueluche, *Arch. de méd. des enfants*, mai 1902.

(2) H. Bordier. — *Arch. d'élect. médicale*, février 1901.

de viande en décomposition dans une atmosphère fortement ozonisée, il constata la disparition de la mauvaise odeur que dégageait la viande. Il concluait en disant que ce gaz possède des propriétés « désinfectantes et antiniasmatiques. »

Clemens, quelque temps après Schoenbein, voulut démontrer ces propriétés de la façon suivante : il prit de l'eau de marais, y plaça des grenouilles, qui moururent au bout d'une heure. D'autre part, il fit passer un courant d'ozone dans la même eau et y mit de nouveau des grenouilles : cette fois les animaux survécurent.

En 1856, Scoutetten renouvela l'expérience de Schoenbein. Il enferma de la viande putréfiée dans un ballon de cinq litres contenant un certain volume d'ozone : au bout d'une minute l'odeur de la viande avait disparue.

Dans une seconde expérience, il fit placer des tas de fumier dans une salle d'un hôpital de Metz : après le passage d'un courant d'ozone pendant deux jours, le fumier avait perdu son odeur.

Richardson (1) ayant lui-même remarqué la disparition de l'odeur du sang desséché sur lequel a circulé l'ozone, proposait un moyen fondé sur ce principe pour la conservation de la viande de boucherie.

En 1875, Boillot reprenait les expériences effectuées par Schoenbein et par Scoutetten sur la viande et obtenait les mêmes résultats.

(1) Richardson. — L'ozone atmosphérique 1865, *Chem. news*, t. XII, p. 481.

L'ozone dans tous ces cas agit en oxydant les matières organiques et en détruisant l'ammoniaque et l'hydrogène sulfuré. Il a toute la valeur d'un puissant désinfectant. Dans quelle proportion fut-il employé ? Les auteurs sont muets sur ce point, de sorte que nous ignorons complètement si la quantité était suffisante pour influencer les germes de quelque façon. Nous avons tout lieu de penser, d'après la description que nous avons donnée des différents appareils employés par Schœnbein et ses successeurs que cette quantité était bien faible et incapable par conséquent d'avoir une action sur les microbes.

2° Les auteurs étrangers se sont tout d'abord occupés de l'action bactériologique de l'ozone. Ainsi en Angleterre, Burdon Sanderson a trouvé qu'en faisant circuler un courant d'ozone dans un certain volume de liquide de Pasteur contenant une culture de bactéries, on n'obtenait par la suite aucun développement.

En 1872, Eulenberg faisant agir l'ozone pendant 6 heures sur le vaccin en atténuait la virulence.

Ærum (1) produisait l'ozone par l'action de l'acide sulfurique sur le permanganate de potasse. Les expériences sur les cultures sèches de charbon demeurèrent sans succès ; il est vrai d'ajouter que la quantité d'ozone dont il disposait était à peine égale à 1/10^e de milligramme par litre.

En Russie, Wynokowitsch (2) préparant l'ozone par

(1) Ærum. — Ugeschrift for Læger, 1887.

(2) Wynokowitsch. — Congrès des médecins russes, janvier 1889.

la combustion lente du phosphore, obtenait un arrêt sensible de développement sans modification de la virulence.

Fischer (1) observa également l'influence de ce gaz sur les microbes. L'ozone était produit au moyen d'une bobine de Ruhmkorff donnant des étincelles de 1 centimètre à 1 centimètre 1/2 et dont le primaire était fourni par une série d'éléments Bunsen. Les essais qui portèrent principalement sur les microbes de la putréfaction, lui donnèrent les résultats que nous résumons :

Dans certains ballons, la pullulation des microbes fut entravée ; la fermentation alcoolique était à peine influencée ; la décomposition des matières albuminoïdes était enrayée ainsi qu'on pouvait le constater par la diminution de l'odeur. Fischer arrive à conclure que l'ozone agit en retardant le développement des bactéries, mais n'est pas capable de les tuer.

La première communication française que nous possédions de l'action de l'ozone sur les germes de l'air, est celle de Chapuis (Bulletin de la Société chimique de Paris, 1889).

« J'ai entrepris des expériences, écrit cet auteur, pour démontrer que l'ozone jouit de la propriété de détruire les germes capables de déterminer les fermentations, les putréfactions et le développement des moisissures. »

Tout d'abord, il recueillit les poussières de l'air sur

(1) Fischer. — Ueber die Einwirkung des Ozons auf Gahrung und Faulniss, 1883.

dés tampons de coton; quelques-uns furent soumis dans un tube à l'action d'un courant d'air ozonisé.

Il plaça ensuite ces tampons dans des flacons contenant de la levure de bière, « liquide que l'on sait très apte au développement de quelques-uns des micro-organismes ». Tous les flacons dans lesquels il introduisit un tampon de coton non soumis à l'action de l'ozone, sont devenus troubles : tous ceux dans lesquels fut placé un tampon ayant séjourné dans l'ozone demeurèrent limpides.

Cependant, en Allemagne, les recherches se poursuivaient, l'action de l'ozone sur les microbes qui semblait indiscutable fut bientôt mise en doute, considérée comme incertaine, sinon comme nulle. Dès 1890, Herman Sonntag (1) publiait le résultat de ses expériences : elles nous parurent suffisamment intéressantes pour que nous en donnions le résumé :

L'ozone était produit par une bobine de Ruhmkorff donnant une étincelle de 4 cm 5 et actionnée par une pile à l'acide chromique. Les expériences portèrent sur les bacilles et les spores de charbon, ainsi que sur les microbes contenus dans la terre de jardin. La quantité de gaz employé dans chacun des essais oscillait entre un litre et un litre et demi. La présence de l'ozone était mise en évidence par l'épreuve du papier de Schœnbein et la proportion d'ozone contenu dans le volume gazeux était déterminée au moyen d'un dosage ayant pour principe l'action de l'ozone sur

(1) Herman Sonntag. — Über die Bedeutung des Ozons als desinficiens. *Zeitschrift für Hygiene*, 1890.

l'acide arsénieux. Voici les résultats auxquels H. Sonntag est parvenu :

Les spores desséchées de charbon exposées au courant d'oxygène ozonisé pendant quatre jours consécutifs, à raison de vingt minutes chaque jour, ne subirent aucune influence. Il en fut de même des spores humides (expérience 1). Le résultat fut encore négatif avec les bacilles retirés directement de la rate d'une souris injectée ; dans ce cas cependant, l'auteur remarqua un arrêt de développement, mais passager, dès le début de l'expérience (expérience 2). En laissant la bactérie charbonneuse pendant 24 heures dans une atmosphère contenant 4 milligrammes d'ozone par litre, il obtenait une certaine atténuation de la végétabilité (expérience 4). L'arrêt de développement pour être nettement observé demandait une proportion de 13 milligrammes 33 d'ozone par litre (expérience 6).

Dans les essais tentés sur les microbes contenus dans l'humus, l'auteur fut incapable de tuer le bacille du tétanos et celui de la septicémie gangréneuse.

L'eau ozonisée « Ozonswasser », dont H. Sonntag s'occupa de déterminer également l'action bactéricide et la valeur thérapeutique, jouit d'une influence réelle, mais au bout de 24 heures de contact sur le bacille du charbon, le bacille d'Eberth et le staphylocoque doré ; son action est nulle sur le bacille de Friedlander.

La même année que H. Sonntag, le Dr Kowalkowsky (1), de Warschau, publiait les résultats obtenus

(1) Kowalkowsky K. P. — Arbeiten russischer Autoren über die Bedeutung des Ozons als desinficiens. *Zeitschrift für Hygiene*, 1890.

par deux auteurs russes : M. Krukosowitsch (1882) et M. Lukaschewitsch (1888). Tous deux s'étaient occupés de l'action de l'ozone, le premier sur les microbes de la putréfaction, le second sur les bactéries pathogènes. Selon Krukosowitsch, les bactéries saprophytes légèrement humides, après le passage pendant une heure d'un courant d'ozone contenant 3 milligrammes par mètre cube, subissaient un arrêt complet de développement : la quantité de 8 milligrammes était nécessaire pour influencer les microbes desséchés. D'autre part, Lukachewisch, se servant pour la production d'ozone de l'appareil de Berthelot, démontra qu'à la dose de 1^{mgr} 5 par mètre cube, l'ozone, mis en contact avec le bacille du choléra pendant 24 heures lui fait perdre une partie de ses propriétés végétatives.

Bien que nous ne puissions mettre en doute les résultats attribués à ces deux expérimentateurs, nous sommes surpris que la proportion de 1^{mgr} 5 par mètre cube d'air soit suffisante pour atténuer les colonies microbiennes.

Ohlmüller (1) (1893) qui étudia également cette question, parvient à formuler les conclusions suivantes : l'ozone n'a aucune action sur les microorganismes secs, par exemple sur le bacille d'Eberth desséché sur des fils de soie ; en milieu humide, le développement est entravé. Quant aux spores

(1) Ohlmüller. — *Ueber die Einwirkung des Ozons auf Bacterien. Arbeiten aus den Kaiserlichen Gesundheits-tante VIII et Hyg. Rund, 1893.*

charbonneuses, elle ne sont nullement influencées. L'ozone est donc impropre à la destruction des germes de l'air, mais peut être employé à débarrasser l'eau des microbes qu'elle renferme, à la condition toutefois que l'eau ne contienne pas trop de matières organiques.

Ces expériences furent suivies en France par celles de Christmas (1). Il ressort de ces essais que l'ozone possède un pouvoir antiseptique réel, car il suffit d'une quantité de 0,1 volume d'ozone pour 100 dans l'air pour arrêter le développement des germes sur la surface des objets plongés dans une telle atmosphère. L'ozone, provenant d'un appareil de Houzeau, à la température du laboratoire était dosé par l'iodure de potassium et le thiosulfate de soude : la proportion était de 2 milligrammes par litre, quand l'ozone était formé au moyen de l'oxygène pur, et de 0,5 milligrammes quand il était produit aux dépens de l'air atmosphérique.

L'auteur ensemence en surface dix tubes de gélose avec une culture de charbon âgée de 48 heures et ne contenant pas de spores. Cinq tubes sont soumis à l'action de l'oxygène ozonisé, circulant à raison de 2 litres par heure. Cinq jours plus tard on ne constatait aucun développement dans les tubes à ozone, alors que les cultures étaient très nettes dans les tubes témoins.

La même expérience fut répétée sur le staphylocoque doré, le bacille de la diphtérie et les spores d'asper-

(1) Christmas. — Sur la valeur antiseptique de l'ozone *Annales de l'Institut Pasteur*, nov. 1893, p. 776.

gillus niger. Le résultat n'a pas varié. Après cinq jours, ces cultures, qui, tout d'abord, étaient demeurées à une température variant entre 16° et 25°, furent placées à l'étuve à 30°. Les germes étaient morts à l'exception des spores d'aspergillus. Les constatations furent identiques sur les microbes cultivés en bouillon nutritif.

Le temps nécessaire pour tuer le bacille du charbon a été déterminé sur des cultures fraîches plongées dans une atmosphère ozonisée d'où on les a retirées de 24 en 24 heures. Le résultat a été que 24 heures de séjour dans une atmosphère chargée de 1,5 à 2 milligrammes d'ozode par litre les tuent invariablement ; 48 heures ont déjà une influence nocive dans ce sens que le développement est ralenti. Un séjour de 24 heures n'avait aucun effet appréciable sur le développement.

En ce qui concerne les spores, leur résistance a été examinée sur celles du bacillus subtilis desséchées sur des fragments de lamelles. Le temps nécessaire pour les tuer fut de huit à dix jours. Si les spores étaient exposées dans un tube renfermant un bouillon, elles ne subissaient aucune altération dans leur développement.

Selon Christmas, l'ozone a donc une action bactéricide ; mais, dès que la quantité d'ozone s'abaisse au-dessous de 2 milligrammes par litre, l'effet antiseptique devient nul. En expérimentant dans une salle de 6 mètres cubes, où l'air ozonisé arrivait avec une vitesse de 1 litre à l'heure et dans une proportion de 0,5 milligramme par litre, l'auteur remarqua que l'air

était difficilement respirable et que les cultures sur gélose de différents microorganismes n'avaient été entravées, ni dans leur développement, ni dans leur virulence.

Parmi les auteurs, qui se sont occupés des effets bactériologiques de l'ozone et qui ont démontré le plus nettement l'influence de ce gaz sur les microbes, nous devons citer MM. Morton et Park (1) (de New-York). Ces expérimentateurs disposaient du générateur d'ozone d'un établissement industriel (Ozone Manufacturing Company), capable de donner en une minute 80 milligrammes d'ozone par litre d'oxygène. Ces auteurs choisirent comme objet d'étude le staphylocoque doré et le bacille de Loeffler. Tout d'abord, ils mêlèrent à de l'eau filtrée et stérilisée une culture de staphylococcus pyogenes aureus provenant d'un ensemencement effectué sur agar vingt-quatre heures auparavant ; une culture de diphtérie fut traitée de la même façon. Des morceaux de gaze imbibés avec de l'eau ainsi contaminée furent placés dans un tube et soumis à l'action de l'ozone ; la quantité d'air ozonisé passant en une minute dans le tube équivalait à « un cinquième de pied cubes », (0^{me}0327). Les microbes furent exposés pendant différents laps de temps, le staphylocoque de 5 à 35 minutes, le bacille de Loeffler de 15 à 45 minutes. Après le passage de l'ozone, le staphylocoque fut ensemencé sur agar et sur gélatine ;

(1) Morton W. et Park. — Ozone and its uses in Medicine. *New-York Medical Journal*, 25 juin 1894. Traduction de M. le Dr G. Vermullen.

dans les cultures soumises à l'ozone pendant 5 minutes, l'action fut négative ; les colonies, qui avaient subi l'influence de l'ozone pendant 35 minutes demeurèrent stériles dans la moitié des cas. Les cultures de bacilles de la diphtérie exposées pendant 15 minutes montrèrent une diminution de la végétabilité dans un grand nombre de colonies, et celles qui le furent 45 minutes ne donnèrent lieu à aucun développement.

La seconde expérience consiste à faire passer pendant cinq, dix et quinze minutes l'air ozonisé dans des tubes contenant en suspension dans l'eau une culture de staphylocoque. Lesensemencements furent négatifs : dans l'expérience de moindre durée (5 minutes), tous les staphylocoques furent tués.

Ces résultats concordent parfaitement avec les conclusions auxquelles ont abouti MM. Oudin et Labbé (1).

En opérant sur des cultures en surface sur gélatine et sur agar, MM. Oudin et Labbé parvinrent à déterminer que l'ozone n'agit que sur les couches superficielles de la colonie et que les couches profondes restent indemnes de toute influence. Lesensemencements effectués avec des cultures soumises à l'action de l'ozone sont entravés dans leur développement, quelquefois partiellement et souvent en totalité. A la dose de 10 à 15 centièmes de milligramme d'ozone par litre d'air, aucune culture sur milieu nutritif n'est modifiée, au contraire, quelques microbes ont leur vitalité augmentée.

(1) Oudin et Labbé. — Action physiologique et thérapeutique de l'ozone. *Congrès international d'électrothérapie et de radiologie médicales, 1900.*

La dose plus considérable de 9 ou 10 milligrammes d'ozone est nécessaire, en prolongeant l'action pendant une demi-heure pour enrayer la prolifération bacillaire.

Un courant d'air ozonisé, soigneusement filtré dans un liquide organique, sang, lait, etc., fut incapable, même dans les proportions ci-dessus indiquées, d'empêcher la décomposition ultérieure. L'effet est plus manifeste sur les colonies en suspension dans l'eau.

« Prenons 400 grammes d'une eau contaminée par les espèces les plus diverses (eau du canal Saint-Martin). Dans la première moitié prise comme témoin, nous faisons barboter deux litres d'air d'un tube à ozone inactif.

« Dans la seconde moitié, faisons barboter deux litres d'air, après avoir mis l'appareil en marche (2 milligrammes d'ozone par litre). Si nous ensemençons deux plaques de gélose avec une goutte de chacun de ces liquides, la première est au bout de 2 jours criblée de colonies innombrables; dans la seconde, nous en comptons à peine deux ou trois.

« Sur des bourres d'ouate, placées dans des conditions identiques, filtrons 50 litres d'air avec un aspirateur débitant 1 litre en 10 minutes. L'une nous sert de témoin. Sur l'autre, nous faisons passer, ensuite, avec la même vitesse, deux litres d'air ozonisé (2 milligrammes par litre). Secouons ces deux tampons d'ouate sur deux plaques de gélose; le témoin nous donnera, au bout de quarante huit heures, d'innombrables colonies; le tampon ozonisé n'enensemencera aucune.

« Une parcelle de culture microbienne est délayée dans 20 centimètres cubes d'eau distillée. Dans la moitié de cette eau, on fait barboter un litre d'air ozonisé (2 milligrammes). Elle devient complètement stérile. Ceci est vrai neuf fois sur dix des espèces pathogènes que nous avons enrayées jusqu'aujourd'hui. »

Ces expériences démontrent nettement le rôle important que peut jouer l'ozone dans la stérilisation des eaux potables. Cette question, tout d'abord étudiée par Séguy, fut reprise par Ohlmüller, Siemens, Halske, Van Ermangen, Tyndall, Van der Sleen, Morton et Park, Oudin et tout récemment en France par MM. Roux et Calmette.

« L'effet le plus remarquable est la destruction des germes présents qui est radicale, complète dans les appareils de laboratoire. Dans les appareils industriels, le nombre des germes est réduit à un taux infime, au-dessous duquel il serait vain de chercher à descendre dans des appareils destinés à fonctionner en grand et d'une manière ininterrompue, comme lorsqu'il s'agit de l'alimentation d'une ville en eau potable. D'ailleurs, parmi les germes qui restent vivants, et qui appartiennent toujours aux espèces connues comme les plus résistantes, on n'en trouve point de pathogènes. » (A. Loir et Ternback).

Nous avons décrit plus haut l'appareil construit par MM. Marmier et Abraham en vue d'appliquer l'ozone à la purification d'une partie des eaux destinées à l'alimentation de la ville de Lille. Afin de porter un jugement sur la valeur pratique du procédé, une Commission fut nommée pour examiner les résultats. MM.

Roux et Calmette furent chargés du contrôle bactériologique.

Voici, d'après le rapport de la Commission (4), les résultats obtenus que nous réunissons dans un tableau.

Le débit de la colonne d'eau atteignait 35 mètres cubes et dans le cours des expériences, la concentration de l'ozone a oscillé entre 5^{mm}8 et 9^{mm}5 par litre d'air. Les prélèvements effectués sur l'eau brute avant les essais ont donné une moyenne de 8318 microbes par centimètre cube, dont 250 liquifiants la gélatine.

Première série d'expériences

N° d'ordre des expériences	Date du prélèvement	Date de l'ensemencement	Milieu de culture	Nombre de ballons ensemencés	Quantité d'eau ensemencée	Nombre de germes par ballon ou matras après 15 jours de culture à 36° pour les ballons et 7 jours à 23° pour les gélatines.	Espèces microbiennes observées
1	11 déc.	11 déc.	Bouillon de viande neutre.	19	59	2	Bacillus subtilis.
	»	»	Gélatine nutritive.	10	15	0	»
2	11 déc.	12 déc.	Bouillon de viande neutre.	23	31	1	Bacillus subtilis.
	»	»	Gélatine nutritive.	3	6,5	2	1 moisissure. 1 bacillus subtilis.
3	12 déc.	16 déc.	Bouillon de viande neutre.	12	58,5	3	Bacillus subtilis.
	»	»	Gélatine nutritive.	7	18	0	»
4	12 déc.	16 déc.	Bouillon de viande neutre.	10	7,5	0	»
	»	»	Gélatine nutritive.	4	4	0	»

(4) Calmette. — Sur la stérilisation des eaux potables par l'ozone. Rapport à la municipalité de Lille, février 1899. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XIII, p. 344.

Deuxième série d'expériences

N° d'ordre des expériences	Date de l'ensemencement	Date du prélèvement	Milieu de culture	Nombre de ballons ensemencés	Quantité d'eau ensemencée	Nombre de germes par ballon ou matras après 15 jours de cul- ture à 36° pour les bouillons et 7 jours à 23° pour les gélatines.	Espèces microbiennes observées
1	17 janv.	18 janv.	Bouillon de viande neutre.	17	20,4	0	»
2	24 janv.	26 janv.	Bouillon de viande neutre.	4	42	0	»
3	27 janv.	27 janv.	Bouillon de viande neutre.	36	100	2	<i>Bacillus subtilis.</i>
	»	»	Gélatine nutritive.	10	36	0	»
4	28 janv.	28 janv.	Bouillon de viande neutre.	35	179,4	4	<i>Bacillus subtilis.</i>
	»	»	Gélatine nutritive.	6	13,2	0	»
5	28 janv.	30 janv.	Bouillon de viande neutre.	24	174	5	<i>Bacillus subtilis.</i>

L'ensemble des analyses bactériologiques a conduit M. Calmette à conclure que le procédé de stérilisation des eaux d'alimentation par l'ozone est d'une efficacité incontestable et que cette efficacité est supérieure à celle de tous les procédés de stérilisation actuellement connus, susceptibles d'être appliqués à de grandes quantités d'eau. Tous les microbes pathogènes ou saprophytes sont parfaitement détruits. Seuls quelques germes de *bacillus subtilis*, microbe inoffensif, résistent.

Bien qu'il ne rentre pas dans le cadre de notre sujet de nous occuper spécialement de stérilisation des eaux potables, qu'il nous soit cependant permis de rapprocher des expériences précédentes les tableaux ci-après, résultant de recherches effectuées sur l'eau

de Seine et l'eau de la Vanne (*Annales de l'Institut Pasteur*). (1).

Eau de Seine

NON OZONÉE	OZONÉE (Première phase)	OZONÉE (Deuxième phase)
B. fluorescensliquefaciens B. coli communis. B. termo. B. proteus vulgaris. M. prodigiosus. B. subtilis. M. aquatilis. M. luteus. M. arantiacus. Penicillium glaucum. Aspergillus niger.	B. subtilis. M. luteus. Penicillium glaucum. (Plus de microbes patho- gènes).	(Plus de microbes).

Eau de la Vanne

NON OZONÉE	OZONÉE (Première phase)	OZONÉE (Deuxième phase)
B. fluorescensliquefaciens. B. coli communis. B. subtilis. B. ferridosus. M. aquatilis. M. caudicaus. Levure rose. Penicillium glaucum. Aspergillus niger.	B. subtilis. M. aquatilis. Levure rose. (Plus de microbes patho- gènes).	(Plus de microbes).

(1) Otto. — L'industrie de l'ozone. Paris, 1900, comptes rendus, Acad. Sciences, 1897, t. CXXIII, p. 78.

La question de l'influence bactériologique de l'ozone semblait donc être établie, et les conditions dans lesquelles agit ce corps définitivement tranchées. Mais, dernièrement, un auteur anglais, M. Rausome (1), publiait une série d'expériences tendant à démontrer que l'ozone n'exerce sur les bactéries aucune action nocive, et que ses effets consistent en une simple réaction oxydante des matières organiques. C'est à peine si, dans un cas, le développement d'une culture fut retardé. Cet expérimentateur donne le détail des cinq expériences sur lesquelles il base ses conclusions :

Les cultures furent soumises pendant un temps plus ou moins long à l'action du gaz, circulant avec une vitesse de 1 litre 5 par minute, pendant une demi-heure : la proportion d'ozone dosé au moyen de l'iodure de potassium passait avec une vitesse de 2 milligrammes par minute. M. Rausome fit porter ses recherches sur les microbes suivants ensemencés en milieux solides et en milieux liquides : bacille de la morve, bacille de la diphtérie, staphylocoque, streptocoque, bacille du charbon, bacille d'Eberth, bacille Coli, bacille pyocyanique, bacille de Friedlander, bacillus prodigiosus. Les résultats furent négatifs, sauf en cas où les bacilles de la morve et du charbon ont paru être atténués dans leur virulence. Ce dernier même en suspension dans le lait fut tué après un contact de 20 minutes — action contraire à celle que nous

(1) Rausome A. — On the influence of the vitality of some pathogenic and other bacteria. — *The Lancet*, 2 mars 1902. (Traduction de M. le Dr G. Vermullen).

trouvons énoncée dans le mémoire de M. Labbé (V. p. 65.) Quant au bacille de la tuberculose, il ne serait nullement influencé.

Nous ne pouvons qu'enregistrer ces conclusions en nous demandant toutefois si les conditions expérimentales étaient exemptes de toute défectuosité ; l'auteur nous dit lui-même qu'il employa pour réunir ces tubes de culture des tuyaux de caoutchouc ; or, nous ferons remarquer que ce corps possède une telle affinité pour l'ozone qu'il est capable d'absorber intégralement la quantité de gaz dont on dispose. Peut-être doit-on rattacher à cette cause l'absence de résultats positifs.

IV

CONCLUSION

Après l'étude d'ensemble que nous venons de donner des différents appareils employés par les expérimentateurs, après la relation de leurs recherches et la comparaison de leurs conclusions, il est difficile de fonder une opinion ferme sur la valeur de l'ozone comme antiseptique.

L'ozone est-il bactéricide ? Dans quelles proportions commence-t-il à agir ? Quelles conditions demande-t-il pour exercer son influence ? Les quantités d'ozone employées pour détruire le germe sont-elles compatibles avec la vie humaine ? Tels sont les points qu'il convenait d'examiner rigoureusement. M. Bordier a pensé que, pour arriver à un résultat exact, il fallait étudier l'action de l'ozone sur chaque microbe

en particulier. Grâce à l'appareil qu'il imagina et qui permet de produire les quantités graduables d'ozone, grâce à des procédés précis de dosage, il s'efforça de réaliser un certain nombre d'expériences. Les recherches eurent tout d'abord pour objet l'atténuation au moyen de l'ozone du bacille de la tuberculose.

Avant d'entreprendre la relation de ses expériences, nous devons énumérer les conclusions qui déroulent de l'étude que nous avons faite de l'histoire de la question :

1° L'ozone contenu dans l'atmosphère est en quantité trop minime pour exercer une influence quelconque sur les germes de l'air.

2° La valeur thérapeutique de l'ozone n'est pas nettement définie. Son rôle est incontestable dans la tuberculose et la coqueluche, mais les conditions de son influence, dans ces deux affections, ne sont pas encore clairement élucidées.

3° La plupart des appareils de laboratoire fournissent des quantités d'ozone si faibles qu'il faut rattacher à cette cause l'insuccès de certaines recherches.

4° Chaque essai pour avoir toute la rigueur scientifique désirable doit être accompagné d'un dosage.

5° L'ozone exerce sur les microbes une action réelle qui dépend des facteurs suivants :

a) *De la proportion d'ozone.* — Pour constater l'influence de l'ozone sur les microbes, il faut employer un appareil capable de fournir 0^{mg}2 d'ozone au moins par litre.

b) *De la nature du microbe.* — Tous les microbes ne

sont pas également influencés par l'ozone. Ainsi le staphylocoque doré (Christmas, Morton et Park) présente une susceptibilité spéciale ; l'aspergillus niger (Christmas), le bacillus subtilis (Roux et Calmette) jouissent d'une résistance remarquable.

c) *Du milieu* qui contient les microbes : l'ozone agit mieux sur les microbes humides que sur les microbes secs. Les microbesensemencés en surface sur les milieux solides sont influencés dans la partie la plus superficielle de la colonie ; la couche profonde n'est pas atteinte (Otto). En milieu nutritif solide, la culture est atténuée dans sa végétalité et sa virulence et peut même être parfois complètement enrayée dans son développement si la dose est considérable. L'ozone possède une efficacité réelle sur les microbes en suspension dans l'eau ; il détruit tous les germes pathogènes et ne laisse subsister que quelques rares espèces saprophytes et indifférentes. Cette propriété, jointe à l'avantage que possède l'ozone de n'apporter aucun élément dangereux, est mise en pratique dans la stérilisation des eaux potables.

L'ozone agit donc d'autant mieux sur les microbes que le milieu nutritif qui les renferme contient moins de substances organiques. Comment pourrions-nous dès lors expliquer que les bacilles plongés dans un milieu subissent une influence moindre de la part de l'ozone que les microbes en suspension dans l'eau ? A ce phénomène nous proposons les explications suivantes :

1° L'affinité de l'ozone pour les matières organiques est telle que la quantité de gaz dégagé est utilisée pour

l'oxydation immédiate des substances dissoutes dans le bouillon nutritif : de cette façon l'influence sur les microbes eux-mêmes est entravée. Ce fait ne se produit pas dans l'eau où les matières organiques n'entrent que pour une faible part.

2º Selon M. Arnozan (1), l'effet de l'oxydation serait de précipiter la substance albuminoïde du bouillon, sous forme d'un coagulum qui entoure les bactéries d'une couche protectrice.

3º Enfin nous pouvons admettre qu'au début l'ozone agit directement sur les microbes contenus dans le bouillon ; les microorganismes sont atténués dans leurs propriétés biologiques, mais ne sont pas détruits. Par la suite, trouvant dans le milieu nutritif et dans la température à laquelle ils sont exposés des conditions eugénésiques, ils résistent à l'action antiseptique et recouvrent leur végétabilité. Dans l'eau, liquide moins favorable à leur développement, l'influence de l'ozone est plus nocive.

(1) Arnozan, — *Traité de thérapeutique*, t. 1900.

CHAPITRE VI

Action de l'ozone sur le bacille de Koch.

Il était intéressant, on le comprend facilement, de se demander quelle est l'action de l'ozone, non sur une infinité de microbes, mais sur quelques-uns en particulier.

Dans ce but, M. Bordier a commencé à réaliser une série d'expériences et a choisi comme objet d'étude le bacille de Koch ; l'intérêt de ces recherches est d'autant plus justifié que l'ozone a été vanté, ainsi que nous l'avons vu, dans le traitement de la tuberculose.

Les expériences entreprises par M. le Professeur Bordier ont été arrêtées et effectuées avec M. le Docteur F. Arloing, et les recherches bactériologiques ont été faites dans le laboratoire de médecine expérimentale de la Faculté de Lyon, dont tout le monde connaît les travaux importants sur la tuberculose.

Les expérimentateurs ontensemencé du bacille de Koch sur pomme de terre et ont fait passer l'air ozonisé provenant de l'appareil à haute fréquence dans les tubes à culture. Le tampon d'ouate fermant les tubes à culture était traversé par deux tubes en verre

coudés à angle droit, l'un arrivant tout près de la pomme de terre, l'autre un peu au-dessous du coton. Pour rendre hermétique chaque tube, on a coulé de la cire par-dessus le tampon, et on a rendu ainsi le bouchon absolument étanche.

Les tubes dans lesquels circulait l'air ozonisé étaient placés à la suite les uns des autres, et le dosage de l'ozone était fait chaque fois au moyen du liquide arsenical contenu dans le ballon dont il a été question plus haut. (v. p. 36).

Voici la marche des expériences :

Le 7 juin. — Ensemencement de tuberculose virulente sur pomme de terre, 5 tubes sont préparés, dont 3 sont destinés à être soumis à l'ozone et 2 sont gardés comme témoins.

Le 8 juin. — Première exposition à l'ozone. L'expérience est commencée à 2 h. 25 et arrêtée à 2 h. 55, durée : 30 minutes; la quantité d'ozone contenu par litre d'air aspiré, et ayant circulé dans les 3 tubes à cultures a été de 128 milligrammes. Ces tubes sont ensuite remis à l'étuve à côté des tubes témoins.

Un accident survenu à un des condensateurs de l'appareil oblige à attendre quinze jours avant de faire la seconde exposition des cultures à l'ozone.

Le 25 juin. — Deuxième exposition à l'air ozonisé. La circulation de cet air dure une demi-heure; la proportion par litre est de 0,5 milligramme.

Le 26 juin. — Troisième exposition pendant trente minutes. L'air contient 0,96 milligramme d'ozone par litre.

Le 27 juin. — Quatrième exposition d'une demi-heure. Ozone par litre, 0,79 milligramme.

Le 28 juin. — Cinquième et dernière exposition à l'ozone. L'air renferme 0,71 milligramme d'ozone par litre.

L'examen comparatif des cultures fait le 2 juillet montre que les cultures témoins se sont développées avec l'abondance ordinaire. Les cultures des tubes exposés à l'ozone sont très peu développées, maigres, et l'intensité des cultures dans les tubes est à celle des témoins comme 1 est à 4.

Les auteurs ne se sont pas contentés de ce simple renseignement pour conclure: ils ont interrogé la virulence de ces dernières cultures. Pour cela, on a procédé le 2 juillet à leur inoculation à 2 lots de deux cobayes et de deux lapins.

Le 15 juillet, on a fait l'examen des animaux et on a constaté:

Premier lot (cultures témoins):

Cobayes: n^{os} 1 et 2, ils ont des ganglions inguinaux tuméfiés: de plus, un léger abcès au point d'inoculation.

Lapins: n^o 1, légère rougeur locale;

— n^o 2, rien.

Deuxième lot (cultures ozonisées).

Cobayes: n^{os} 3 et 4, rien.

Lapins: n^o 3, rien;

— n^o 4, localement, trois ou quatre points blanchâtres, semblant caséeux, sous-cutanés.

Le 26 juillet. — On sacrifie ces animaux et on fait soigneusement l'autopsie. On constate alors les faits suivants:

Premier lot: cultures témoins. *Cobaye n^o 1*. Abcès local: les ganglions inguinal, fémoral, sous-lombaire, rétro-hépatique sont pris avec tendance à la dégénérescence caséreuse.

La rate est farcie de tubercules.

Dans le foie: 551 tubercules.

Gros ganglion trachéo-bronchique.

Poumons: 559 tubercules pulmonaires.

Cobaye n° 2. — Mêmes lésions sauf aux poumons où elles sont un peu moins marquées.

Lapin n° 1. — Granulations, au point d'inoculation, ramollies. Ganglion sous-lombaire un peu tuméfié. Rien au foie, à la rate, aux poumons.

Lapin n° 2. — Même état.

Deuxième lot : Cultures ozonisées. *Cobaye n° 3.* Pas d'abcès local; petit ganglion précrural. Volumineux ganglion sous-lombaire ramolli.

Rien dans la rate.

Rien dans le foie.

Pas de tubercules sensibles au doigt dans le poumon. Ganglion trachéo-bronchique un peu hypertrophié.

Cobaye n° 4. — Même état.

Lapin n° 3. — Accidents locaux réduits au minimum. Pas de tubercules, ni dans les ganglions, ni dans les organes.

Lapin n° 4. — Rien à noter.

En résumé : on voit que les cultures témoins ont donné des lésions tuberculeuses généralisées en trois semaines, tandis que les cultures ozonisées ont été considérablement atténuées et n'ont jamais infecté les organes. Leur virulence s'est trouvée arrêtée par les ganglions et n'a pu franchir ceux-ci.

« Il est permis d'espérer, ajoute M. Bordier, que l'air ozonisé administré à dose convenable, pas trop forte, mais cependant suffisante : 0,3 milligramme par litre, donnera d'excellents résultats dans le traitement de la tuberculose et que la virulence des bacilles de Koch pourra être atténuée dans l'organisme comme elle l'a été *in vitro*. » (1).

(1) *Arch. d'elect. médic.*, février 1901, p. 99.

CHAPITRE VII

Action de l'ozone sur le bacille de Lœffler

Nous avons résolu de continuer les recherches de M. le professeur Bordier en opérant sur un microbe pris isolément. Nos expériences ont porté sur le bacille de Lœffler. Les essais tentés sur ce microbe pourvu de spores et doué d'une résistance considérable contre les agents antiseptiques devaient, selon nous, contribuer à démontrer l'efficacité de l'ozone sur les bacilles. Nous avons remarqué, d'autre part, que l'ozone avait été appliqué par plusieurs auteurs dans le traitement de la diphtérie. Aussi avons-nous pensé qu'il serait intéressant de vérifier par le contrôle bactériologique les succès thérapeutiques attribués à l'ozone.

Nos recherches ont comporté les opérations suivantes :

- 1° Exposition des cultures à l'ozone ;
- 2° Examen des cultures ;
- 3° Inoculations ;
- 4° Observations des résultats fournis par l'autopsie.

Nous avons soumis les cultures à l'influence de l'ozone dans le laboratoire de physique médicale de la Faculté.

Nos expériences ont été effectuées en collaboration avec M. le docteur F. Arloing, qui a bien voulu nous

assurer son concours dans la série de nos constatations bactériologiques.

I

TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE

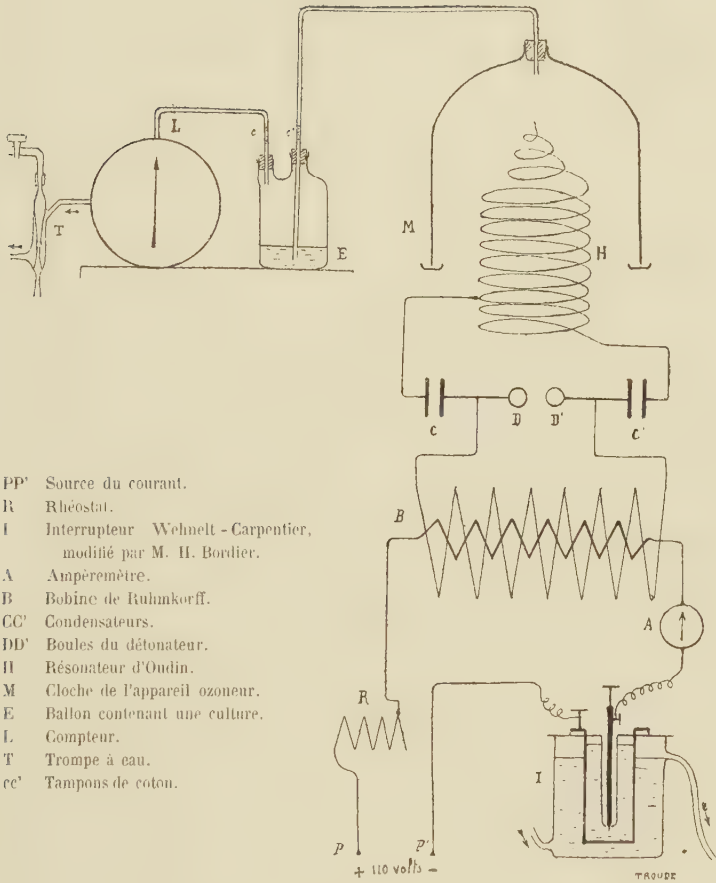
La source d'ozone était fournie par l'appareil de M. H. Bordier ; nous avons donné antérieurement le principe de cet appareil et nous avons insisté particulièrement sur sa description et son fonctionnement (voir p. 19 et suivantes).

Au sommet de la cloche M, qui recouvre l'hélice et la spirale de cuivre H, est adapté un tube de verre coudé deux fois. Ce tube est destiné à amener l'air ozonisé en contact avec les microbes.

La culture est contenue dans un flacon E à deux tubulures garnies de bourres d'ouate qui, au moment de la mise en marche de l'appareil, sont recouvertes de paraffine, afin d'intercepter l'arrivée de l'air extérieur.

L'un des tubes du flacon qui plonge dans le liquide nutritif est réuni au tube venant de la cloche ; l'autre tube, dont l'extrémité inférieure se trouve à une distance la plus grande possible de la surface du liquide, est relié à une trompe à eau T. La trompe que nous employons est celle de Berlemont. Entre le flacon et la trompe, nous avons installé un compteur L destiné à nous donner en litres la quantité de gaz traversant l'appareil.

L'ozone produit dans la cloche aux dépens de l'air atmosphérique sous l'influence des effluves électriques est aspiré par la trompe à eau et traverse



- PP' Source du courant.
 R Rhéostat.
 I Interrupteur Wehnelt - Carpentier,
 modifié par M. H. Bordier.
 A Ampèremètre.
 B Bobine de Ruhmkorff.
 CC' Condensateurs.
 DD' Boules du détonateur.
 H Résonateur d'Oudin.
 M Cloche de l'appareil ozoneur.
 E Ballon contenant une culture.
 L Compteur.
 T Trompe à eau.
 cc' Tampons de coton.

FIGURE IV

Dispositif expérimental

successivement le flacon contenant la culture et le compteur. Une pince située sur le trajet du compteur à la trompe nous permet d'établir la circulation d'air ozonisé à volonté, et, en général, après que l'appareil à haute fréquence est en marche depuis une minute environ.

Afin de nous mettre en garde contre toutes les causes d'erreur provenant de la contamination des milieux nutritifs par les germes de l'air, nous filtrons le gaz à travers des tampons de coton *cc'* avant son entrée dans le flacon.

Pour éviter que, par suite de l'intensité du courant d'air, les tampons d'ouate ne soient entraînés dans le sens du courant jusqu'au contact du liquide, ces tampons sont maintenus à l'extrémité des tubes du flacon : comme nous avons pris soin de leur donner une certaine longueur, nous les avons attirés d'un centimètre environ hors des tubes et fixés en les pinçant entre le tube de verre et le tube d'union.

Outre ce procédé de filtration, nous avons fait usage dans nos dernières expériences d'un flacon à deux tubulures, dont l'un des tubes plonge dans l'eau et l'autre est libre au-dessus de la surface du liquide. De cette façon, l'air abandonne dans l'eau les poussières qu'il entraîne avant son passage dans le bouillon de culture, et les chances de contamination sont, de ce fait, diminuées. Jamais, par ce procédé, nous n'avons eu à constater l'apport de nouveaux germes dans le milieu contenant en suspension les microbes.

L'ozone, qui attaque le caoutchouc, rendait difficile l'usage de cette substance. Toutes les fois qu'il nous a

été possible, nous avons employé le liège. Quand nous avons dû nous servir de caoutchouc, nous avons fait en sorte que le tube de caoutchouc fût très épais et que les extrémités des tubes de verre qu'il avait pour but de réunir fussent amenées au contact l'une de l'autre très exactement, afin de tapisser entièrement la surface interne du tuyau d'union et de ne laisser aucun espace de caoutchouc en contact avec l'ozone. Nous avons eu cependant à constater l'usure des tubes et nous étions forcés pour chaque expérience de les remplacer.

Les flacons dont nous faisons usage ont une capacité de 2 litres et de 4 litres.

Malgré leur volume, le bouillon de culture ne s'élève que jusqu'à un ou deux centimètres de leur hauteur : la circulation du gaz au milieu de la matière albuminoïde provoque un tel bouillonnement et la production de bulles en si grand nombre que le liquide se serait sans cette précaution échappé, et aurait été entraîné vers la trompe; par son contact avec le coton obturant le tube de verre, il aurait provoqué sa contamination.

Tels sont les procédés que nous avons employés pour obvier aux difficultés que nous avons rencontrées au cours de nos recherches.

La quantité de gaz était calculée dans chacune de nos expériences au moyen du compteur. Pour les dosages, nous nous sommes conformés aux chiffres fournis par M. le Dr Bost. Comme cet auteur se servait du même appareil que nous-même, il nous fut facile de nous placer dans des conditions identiques.

La force électromotrice du circuit primaire P1' provenant du courant de la Compagnie du gaz de Lyon

est de 120 volts : l'intensité est égale à 12 ampères. La distance entre la boule DD' du détonateur de l'appareil ozoneur équivaut à 23 millimètres. Nous avons annexé à la bobine donnant 60 centimètres d'étincelles, l'interrupteur Wehnelt-Carpentier que nous avons décrit plus haut.

La quantité d'ozone oscille autour d'une moyenne de 0 milligr. 25 par litre.

II

ACTION DE L'OZONE SUR LES BACILLES

Expérience I

6 février 1901. — Dans deux flacons A et B de deux litres chacun, nous ensemençons du bouillon nutritif avec une culture de diphtérie (culture Massol). Immédiatement après l'ensemencement, nous faisons passer pendant quinze minutes dans le flacon A et trente minutes dans le flacon B un courant d'air ozonisé. La quantité de gaz qui barbote à travers les cultures est égale à :

Flacon A.....	204 litres
— B.....	333 —

Au moment du passage du courant, nous n'observons dans le milieu aucune modification.

Les flacons sont portés à l'étuve à 37°.

7 février. — On ne constate aucun développement dans les flacons.

8 février. — Les liquides commencent à se troubler : la culture est plus abondante dans le flacon B.

9 février. — Mêmes constatations que la veille.

10 février. — On observe un dépôt dans les deux flacons, moins abondant dans le flacon B.

La prolifération bacillaire n'a donc pas été entravée : arrêtée tout d'abord, elle s'est développée avec une intensité d'autant moindre que l'ozone avait été plus abondant.

Expérience II

21 février 1901. — On ensemeence dans le bouillon une culture de diphtérie (culture Massol ex Massol de vingt-quatre heures). En même temps, on ensemeence une seconde culture que l'on réserve comme témoin. On fait sur-le-champ passer un courant d'ozone. La quantité d'air ozonisé circulant pendant quinze minutes est égale à 37 litres.

La culture est portée à l'étuve à 37°.

22 février. — La culture est soumise une seconde fois à l'ozone :

Temps.	45 minutes
Quantité.	158 litres

23 février. — Troisième exposition à l'ozone :

Temps.	30 minutes
Quantité.	284 litres

25 février. — Quatrième exposition à l'ozone :

Temps.	45 minutes
Quantité.	167 litres

Après chacune de ces opérations, la culture fut toujours placée dans les conditions de température les plus favorables à son développement, et malgré le passage du courant d'ozone pendant plusieurs jours de suite, la végétabilité n'a pas été enrayée.

Nous avons pratiqué des inoculations pour nous assurer de l'influence de l'ozone sur la virulence. Quatre cobayes sont inoculés, deux avec la culture ayant subi l'action de l'air ozonisé, et deux autres avec la culture témoin.

Culture ozonisée :

Cobaye 1.....	1/4 c.c.
— 2.....	1/2 c.c.

Culture ordinaire :

Cobaye 3.....	1/4 c.c.
— 4.....	1/2 c.c.

5 mars. — Nous constatons les résultats suivants : les cobayes 1 et 3 sont morts le 27 février, le cobaye 4 le 3 mars.

22 mars. — Le cobaye 2 survit jusqu'à cette date. Nous pratiquons l'autopsie qui nous donne comme lésions :

Œdème au point d'inoculation, pas de lésions généralisées.

Nous ne trouvons ni pleurésie, ni hyperhémie des capsules surrénales, ni congestion de l'intestin.

L'action de Pozone, qui, dans cette expérience, n'a pas été effective sur la végétabilité, paraît s'être exercée d'une façon plus évidente sur la virulence. L'autopsie du cobaye qui a survécu un mois environ à l'inoculation de 1/2 c.c. de culture, ne nous a révélé aucune lésion viscérale. Malheureusement, nous n'avons pas les résultats comparatifs fournis par les cobayes témoins, ayant négligé de constater les lésions qu'ils présentaient.

Expérience III

28 février. — Ensemencement dans le bouillon nutritif de diphtérie (culture Massol), dans deux flacons A et B et dans un ballon devant servir de témoin.

Circulation d'un courant d'air ozonisé pendant quinze minutes. La quantité qui passe à travers les cultures est respectivement égale à :

Flacon A.....	100 litres
— B.....	33 —

1^{er} mars. — On ne remarque aucun développement dans le flacon A; le liquide du flacon B est légèrement troublé. Les deux flacons sont de nouveau soumis à l'ozone :

Flacon A....	110 litres	} Temps :
— B....	13 —	
		15 minutes

Ils sont portés, ainsi que les jours suivants, à l'étuve à 37°.

2 mars. — On observe un trouble dans les flacons A et B; le développement est moins prononcé dans A que dans B; l'intensité de A est à celle de B dans le rapport de 2/3.

La prolifération est accentuée dans la culture témoin.

Les flacons sont de nouveau traversés par un courant d'air ozonisé pendant un quart d'heure :

A.....	154 litres
B.....	35 —

4 mars. — Aucune modification dans la culture A; dépôt plus abondant dans B.

Quatrième exposition à l'ozone :

A.....	104 litres
B.....	91 —

5 mars. — Le rapport de l'intensité de développement dans les deux flacons peut être considéré comme équivalent à 3/4. La somme des quantités de gaz ayant barboté dans les cultures est égale à

A.....	468 litres
B.....	182 —

L'examen microscopique des cultures (culture ordinaire et culture ozonisée) nous révèle l'existence, outre les bacilles de Loeffler, d'éléments en bâtonnets courts

terminés par une extrémité carrée. Malgré cette cause d'erreur, nous pratiquons des inoculations :

Cobaye 1.....	1/4 c.c.	culture témoin
— 2.....	1/4 c.c.	} culture B
— 3.....	1/10 c.c.	
— 4.....	1/4 c.c.	} culture A
— 5.....	1/10 c.c.	

En même temps, nous ensemençons trois ballons avec chacune des cultures d'épreuve.

7 mars. — Les cobayes 1, 2 et 4 (1/4 c.c.) sont morts; les résultats de l'autopsie sont les suivants :

Cobaye 1 (témoin). Nous trouvons un gros œdème au point d'inoculation, avec engorgement ganglionnaire du groupe inguinal; les capsules surrénales sont hyperhémées; les intestins présentent une congestion intense; un épanchement occupe la plèvre de chaque côté.

Cobaye 2. Nous observons un œdème au point d'inoculation et de la congestion des capsules surrénales. Pas de pleurésie.

Cobaye 3. Œdème de la cuisse inoculée. Pas de pleurésie, ni de congestion des capsules surrénales.

Les ensemencements que nous avons effectués avec les trois cultures ont amené une prolifération d'égale intensité.

8 mars. — Le cobaye 3 meurt. Le cobaye 5 survit avec un léger empâtement de la cuisse.

28 mars. — Nous pratiquons l'autopsie du cobaye 5; nous constatons un abcès au point d'inoculation, sans relever aucun signe d'intoxication diphtérique.

Ainsi, nous n'avons pu entraver le développement du bacille de Loeffler; sa végétabilité a été enrayée dans une mesure proportionnelle à la quantité d'ozone avec laquelle les cultures furent en contact.

Lesensemencements effectués avec les cultures ayant subi l'influence de l'ozone ne nous présentent aucune particularité.

Les inoculations nous ont montré que les lésions caractéristiques chez l'animal injecté avec une culture ordinaire sont à peine généralisées chez les cobayes qui ont reçu 1/4 de c.c. de culture ozonisée et simplement locales chez le cobaye qui a survécu à l'injection de 1/10 c.c. de la même culture.

Nous ne pouvons cependant accorder à cette expérience toute la valeur scientifique désirable en raison de l'intervention de l'élément étranger que nous avons signalé. Une nouvelle expérience est donc nécessaire.

Expérience IV

7 mars. — Ensemencement de diphtérie (culture Massol) dans le bouillon nutritif; en même temps ensemencement dans un ballon réservé comme témoin.

On expose la culture contenue dans un flacon à un courant d'ozone pendant dix minutes; la quantité de gaz qui traversa le flacon est égale à 64 litres.

12 mars. — Nous remarquons que la prolifération bacillaire s'est produite dans la culture d'épreuve et la culture témoin, plus abondante cependant dans cette dernière.

Inoculations :

Cobaye 1.....	1/4	}	culture ozonisée
— 2.....	1/10		
— 3.....	1/4	}	culture ordinaire
— 4.....	1/10		

14 mars. — Les cobayes 3 et 4 (témoins) sont morts. Nous relevons les lésions suivantes sur chacun d'eux :

Cobaye 3. — Edème de la cuisse inoculée avec envahissement ganglionnaire inguinal. Congestion des capsules surrénales et de l'intestin. Epanchements pleuraux abondants chez le cobaye 3.

Cobaye 4. — Mêmes lésions. Epanchement moins considérable.

16 mars. — Le cobaye 2 meurt. L'autopsie nous donne une congestion assez intense au point d'inoculation; nous ne constatons aucune lésion sur les capsules surrénales, sur l'intestin, ni épanchement dans les plèvres.

Le cobaye 4 a survécu.

Dans cette expérience, outre l'influence sur la végétabilité, nous observons donc une atténuation de la virulence; ainsi que le prouvent l'absence de lésions généralisées sur le cobaye inoculé avec la culture ozonisée et la survie de celui qui a reçu 1/4 de centimètre cube de la même culture.

En résumé, nous pouvons conclure de nos expériences sur le bacille de Loeffler :

1° L'ozone, à la dose où nous l'avons employé (quantité maxima = 468 litres; proportion par litre : 0^{mg}.25) est incapable de tuer les bacilles en milieu nutritif liquide.

2° Il peut atténuer leur végétabilité dans un espace de temps qui n'excède pas 48 heures, mais permet ultérieurement une prolifération cependant moins intense que dans les cultures ordinaires.

3° Il agit en atténuant la virulence des bacilles au point de permettre la survie des cobayes inoculés et de ne produire chez ceux qui succombent que des lésions purement limitées au point d'inoculation.

III

ACTION DE L'OZONE SUR LA TOXINE DIPHTÉRIQUE

Afin d'expliquer plus clairement l'action que paraissait avoir l'ozone sur les bacilles, nous avons pensé qu'il était nécessaire de tenter de nouvelles expériences. Négligeant cette fois le rôle de ce gaz sur la vitalité des microbes, nous nous sommes attachés à démontrer l'influence de l'ozone sur la virulence des microbes : autrement dit, nous avons songé à résoudre la question suivante : si l'ozone possède cette action bactéricide que lui prêtent certains auteurs, ne pourrait-il aussi avoir un rôle antitoxique ? n'est-il pas susceptible de former avec les produits solubles des bacilles un composé moins virulent que les sécrétions microbiennes elles-mêmes ?

C'est pour cette raison que nous avons recherché l'influence de l'ozone sur la toxine diphtérique. Ne connaissant aucun essai tenté antérieurement sur ce sujet, nous nous contenterons de relater les expériences que nous avons faites avec M. le docteur F. Arloing.

Le dispositif était semblable à celui que nous avons décrit plus haut, les conditions expérimentales absolument identiques. Le flacon renfermant la toxine, de même capacité que précédemment, remplaçait celui qui contenait la culture dans les expériences sur les bacilles.

Afin d'apprécier exactement la virulence de la toxine que nous avons employée, nous l'avons inoculée à

doses variables à des cobayes. Ces doses étaient respectivement égales à

Cobaye 1	1	c.c.
Cobaye 2	1/2	c.c.
Cobaye 3	1/4	c.c.
Cobaye 4	1/10	c.c.
Cobaye 5	1/20	c.c.
Cobaye 6	1/30	c.c.
Cobaye 7	1/40	c.c.
Cobaye 8	1/50	c.c.

La toxine (toxine David) provient d'une culture du 28 décembre 1901, filtrée le 7 janvier 1902. Nous avons pratiqué les inoculations le 9 janvier chez les cobayes 1, 2, 3 et 4 et le 22 janvier chez les cobayes 5, 6, 7 et 8.

Voici le relevé de nos constatations :

Cobaye 1. Inoculé le 9 (1 cc.). — Gros œdème local, le 10 ; mort le 11. Autopsie : Congestion de l'intestin et des capsules surrénales, pas de pleurésie. Envahissement ganglionnaire inguinal du côté inoculé.

Cobaye 2 (1/2 cc.). — Mort le 10. Mêmes lésions.

Cobaye 3 (1/4 cc.). — Mort le 11. Autopsie : Congestion de l'intestin ; hyperhémie des capsules surrénales, épanchement pleural ; tuméfaction au point inoculé, pas de suppuration.

Cobaye 4 (1/10 cc.) — L'œdème de la cuisse léger le 10 janvier est considérable le 11. Le cobaye meurt le 12.

Autopsie : Hyperhémie de l'intestin et des capsules surrénales ; pas d'épanchement ; pas d'abcès local.

Cobaye 5 (1/20 cc.). — Mort cachectique le 24 février. Il présente un gros œdème de la cuisse avec tuméfaction des ganglions.

Autopsie. — Congestion de l'intestin ; ni hyperphémie des capsules surrénales, ni épanchement pléral. Congestion au point d'inoculation ; ganglions inguinaux volumineux.

Les cobayes 6, 7, 8 survivent ; nous en cessons l'observation après le 24 février.

Ainsi la toxine que nous employons est encore virulente pour le cobaye à la dose de 1/20 de centimètre cube. Avec les doses 1/30, 1/40, 1/50 on constate la survie de l'animal inoculé.

Expérience I

22 janvier 1902. — Nous faisons barboter dans la toxine contenue dans un ballon 57 litres d'air ozonisé ; le courant de gaz passe pendant 15 minutes.

Nous n'observons aucune modification du liquide ; le flacon est laissé à la température du laboratoire.

23 janvier. — Nous injectons la toxine à quatre cobayes :

Cobaye 1.....	1 cc ;
Cobaye 2.....	1/2 cc ;
Cobaye 3.....	1/4 cc ;
Cobaye 4... ..	1/10 cc ;

25 janvier. — Le cobaye 1 meurt avec tous les signes de l'intoxication diphtérique.

27 janvier. — Cobayes 2 et 3 morts.

L'autopsie nous révèle l'hyperhémie des capsules surrénales et de l'intestin. Pas de pleurésie.

28 janvier. — Cobaye 4 mort.

Congestion de l'intestin. Épanchement pleurétique. Pas d'hyperhémie des capsules surrénales. Congestion au point d'inoculation. Ganglions inguinaux tuméfiés.

Ainsi, le passage d'un courant d'ozone n'a modifié en aucune sorte la virulence de la toxine ; tous les cobayes inoculés succombèrent même à la dose de 1/10

de centimètre cube et avec des lésions caractéristiques de l'infection. Nous devons donc tenter une seconde expérience en augmentant la quantité d'air ozonisé.

Expérience II

Nous faisons passer un courant d'air ozonisé à travers un flacon contenant une nouvelle quantité de toxine.

Le nombre de litres et le calcul du temps employé dans chaque séance sont donnés par les chiffres suivants :

	Quantité	Temps
27 janvier.....	49 litres	6 minutes
30 janvier.....	43,5 »	7 »
31 janvier.....	60 »	45 »
1 février.....	65 »	15 »
3 février.....	65 »	15 »

Total 222 litres

Nous remarquons qu'à mesure que nous répétons les séances d'exposition à l'ozone, la toxine prend une teinte de plus en plus foncée et présente une coloration nettement brune le dernier jour.

Le 3 février, nous injectons la toxine à quatre cobayes :

Cobaye 1.....	1 cc;
Cobaye 2.....	1/4 cc;
Cobaye 3.....	1/10 cc;
Cobaye 4.....	2/10 cc;

Nous observons pendant les jours suivants :

Le cobaye 1 présente un œdème le lendemain du jour de l'inoculation, 4 février, qui augmente le 5 et le 6, puis demeure stationnaire.

Même constatation pour le cobaye 2 ; nous ne trouvons ni tuméfaction de la cuisse inoculée, ni engorgement ganglionnaire chez les cobayes 3 et 4.

8 mars. — Tous les cobayes inoculés ont survécu ; nous cessons l'observation à partir de cette date.

Donc, en augmentant la quantité d'ozone, jusqu'au nombre de 222 litres, nous obtenons l'atténuation de la virulence de la toxine, ainsi que le démontre la survie des cobayes injectés même à la dose de 1 cc.

Expérience III

Afin de rechercher plus nettement le degré d'atténuation de la toxine, nous réalisons une nouvelle expérience en maintenant la quantité d'ozone dans une proportion intermédiaire à celles que nous avons employées dans les expériences 1 et 2.

Voici la liste des nombres obtenus :

	Quantité	Temps
24 mars.....	45 litres	45 minutes
25 mars.....	77 »	15 »
26 mars.....	23 »	15 »
28 mars.....	48 »	13 »
Total	163 litres	

Nous observons encore le changement de coloration que nous avons déjà constaté dans l'expérience précédente.

5 mai. — Nous inoculons 4 cobayes :

Cobaye 1.....	1/2 cc ;
Cobaye 2.....	1/10 cc ;
Cobaye 3..	1/20 cc ;
Cobaye 4.....	1/50 cc.

Les cobayes 1 et 2 présentent les jours suivants un œdème local.

Les cobayes 3 et 4 meurent cachectiques le 27 mai. L'autopsie ne nous révèle aucun signe d'infection.

Les cobayes 1 et 2 succombent le 26 mai.

L'autopsie, pratiquée par M. F. Dumoulin, nous fournit les renseignements suivants :

Cobaye 1: Légère congestion de l'intestin et des capsules

surrénales ; pleurésie légère plus accentuée du côté droit.
Rien au point d'inoculation.

Cobaye 2 : Mêmes lésions.

La quantité d'ozone (0 mg. 25 par litre) renfermée dans 163 litres d'air est donc suffisante pour atténuer jusqu'à un certain point la toxine diphtérique. Les cobayes inoculés avec les doses de $1/2$ et $1/10$ de centimètre cube présentent, malgré les signes d'une infection généralisée de moyenne intensité, une durée de 21 jours.

Cette dernière expérience confirme donc la précédente.

Nous résumerons nos expériences sur la toxine diphtérique de la façon suivante :

Pour une quantité d'air ozonisé à 0 mg. 25. par litre inférieure à 60 litres, l'action a été négative. En élevant la quantité au-dessus de 150 litres, nous avons obtenu par inoculation au cobaye une survie de 10 jours.

Au-delà de 200 litres, la survie est illimitée, même sous l'effet d'une dose de 1 centimètre cube, alors que le témoin a succombé au bout de 24 heures avec une dose de $1/2$ centimètre cube.

CONCLUSIONS

I. — L'ozone contenu dans l'air se trouve en quantité tellement faible que son action est nulle sur l'étiologie des maladies et la marche des épidémies.

II. — Parmi les appareils de laboratoire producteurs d'ozone, les machines statiques ne donnent qu'une proportion infinitésimale de ce gaz. Les appareils du type Houzeau ne suffisent pas dans tous les cas où l'on étudie l'influence de l'ozone sur les bactéries. L'appareil à haute fréquence est le seul dont le rendement soit considérable, et qui fournisse des quantités susceptibles de varier à volonté et d'être mesurées exactement.

Les installations industrielles ont un débit très grand, mais ne peuvent servir pour les expériences de laboratoire comme les nôtres.

III. — La nécessité d'un dosage joue un rôle capital dans la détermination de l'action bactériologique de l'ozone : le procédé fondé sur l'oxydation de l'acide arsénieux en présence de l'iodure de potassium est capable de fournir les résultats les plus précis.

IV. — L'air ozonisé exerce sur les microbes une action réelle qui dépend des facteurs suivants :

1^o *Proportion d'ozone.* — L'influence sur la végétabilité et la virulence commence à se manifester avec une dose de deux dixièmes de milligramme en moyenne par litre.

2^o *Nature du microbe.* — Certains microbes, tels que le staphylocoque, présentent une susceptibilité spéciale; d'autres, comme le bacillus subtilis, jouissent d'une résistance remarquable.

3^o *Milieu qui contient le microbe.* — L'ozone agit avec d'autant plus d'efficacité que le milieu renferme moins de matières organiques.

V. — Le bacille de Koch, ensemencé sur pomme de terre, est atténué sous l'influence de l'ozone.

VI. — Sur le bacille de la diphtérie cultivé dans le bouillon nutritif, on observe, avec une dose moyenne de 0^{mg}25 par litre, une légère diminution de la végétabilité et une atténuation notable de la virulence après le passage d'un courant d'air ozonisé.

VII. — Sur la toxine diphtérique, l'ozone agit en produisant une atténuation considérable de la virulence.

VU :

Le Président de la Thèse,

ARLOING.

VU :

Pour le Doyen, l'Assesseur,

LACASSAGNE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 17 décembre 1902

Le Recteur,

Président du Conseil de l'Université.

G. COMPAYRÉ.

BIBLIOGRAPHIE

- ARNOZAN X. — Traité de Thérapeutique, t. I, 1900.
- ARSONVAL (d'). — Sur la production de l'ozone concentré et sur ses effets bactéricides. Comptes rendus de la Société de biologie de Paris, 1895.
- BAUR J. — Etude expérimentale de l'action physiologique de l'ozone. Thèse de Lyon, 1901.
- BECQUEREL. — Communication relative aux expériences de M. Schœnbein sur l'ozone. Comptes Rendus de l'Acad. des Sc., 1850, t. XXX, p. 43.
- BERNARD (CL.). — Sur les effets des substances toxiques médicamenteuses, 11 avril 1856.
- BERTHELOT. — Annales de chim. et de phys., 1877, t. X, p. 172 et 1878, t. XIV, p. 354.
- BICHAT et GUNTZ. — Etude sur la production de l'ozone par les décharges électriques. Ann. de chim. et de phys. 1890.
- BECKEL (E.). — De l'ozone. Thèse de Strasbourg, n° 369, 1836.
- BECKEL (TH.). — De l'ozone. Gazette médicale de Strasbourg, p. 282, 1854 et p. 41, 1862.
- BONA (H.). — De l'ozone. Thèse de Paris, n° 31, 1864.
- BONTEMPS. — Traitement de la tuberculose et de l'anémie par les inhalations d'air ozonisé. Congrès de l'Association française pour l'avancement des Sc. 1891, t. I, p. 309.

- BORDIER H. — Précis de physique médicale, 1899. Production, effets physiologiques et emploi thérapeutique de l'ozone. Archives d'électricité médicale expérimentales et cliniques, 15 janvier et 15 février 1901.
- BORDIER et MOREAU. — Recherches sur la production d'ozone fourni par les courants de haute fréquence et le résonateur d'Oudin. Archives d'électricité médicale, 15 février 1900.
- BOST F. — Toxicologie de l'ozone. Thèse de Lyon, doctorat de pharmacie, 1901.
- CAHOURS. — Rapport sur les travaux de Houzeau. Comptes Rendus de l'Acad. des Sc., 1870.
- CAILLÉ. — Congrès de l'art pédiatrique de Boston, mai 1892.
- CALMETTE. — Rapport à la municipalité de Lille sur la stérilisation des eaux potables par l'ozone, 1899. Annales de l'Institut Pasteur, 12 février 1899, t. XIII, p. 344.
- CARATZALIS. — Des applications thérapeutiques de l'ozone. Thèse de Paris, 1901.
- CHAPPUIS. — Action de l'ozone sur les germes contenus dans l'air. Bulletin de la Société chimique de Paris, 1881.
- CHRISTMAS. — Sur la valeur antiseptique de l'ozone. Annales de l'Institut Pasteur, nov. 1893, p. 776.
- CLOEZ. — Compt. rend. de l'Acad. de Sc., 1856, t. XV, p. 267.
- COLLART. — Traitement de la tuberculose pulmonaire par les inhalations d'ozone. Annales de la Société médico-chirurgicale de Liège, nov., 1891, p. 377.
- DELAHOUSSE (Ch.). — L'ozonisation artificielle. Gazette des hopitaux, 25 mars 1862.
- DELHERM. — Action de l'ozone sur la coqueluche. Archives de médecine des enfants, mai 1902.
- DESPLATS. — De l'Ozone. Thèse de Paris, n° 170, 1857.
- FISCHER. — Ueber die Einwirkung des Ozons auf Gährung und Faulniß. Bonn 1883.
- FOVEAU DE COURMELLES. — Indépendance médicale 1890 p. 265.
- GORUP-BESANEZ. — Ueber die Einwirkung des Ozons auf organische Verbindungen. Annalen der chem. und pharm. Bd. cx p. 86, 107, 1859.

- HAHN (L.). — Article Ozone: Dictionnaire encyclopédique des Sciences médicales, t. LXXXI.
- HÉRARD. — Rapport sur un mémoire de MM. Labbé et Oudin, intitulé : Du traitement de la tuberculose pulmonaire par les inhalations d'air ozonisé. Bulletin de l'Acad. de Méd. t. xxx p. 343, 1893.
- HOUSSEAU. — Annales de chimie et de physique, t. LXII, p. 429, 1861. — Comptes-rendus de l'Académie des sciences, t. LXII, p. 426, 1866 et t. VII, p. 84, 1868, et t. LXXXV, p. 217, 1872. Sur la génération naturelle et artificielle de l'ozone. Thèse de chimie, Marseille 1874.
- KOWALKOWSKY. — Arbeiten russischer Autoren über die Bedeutung des Ozons als desinfectiens. Zeitschrift für Hygien, 1890.
- LABBÉ. — De l'ozone. Aperçu physiologique et thérapeutique Paris 1889. — Comptes rendus de l'Ac. des Sc., 1894. — Comptes rendus de l'Acad. de Méd., 1894-1893. — Comptes rendus du Congrès de la Tuberculose, 1894. — Comptes rendus de l'Ass. franç. par l'Av. des Sc., 1894.
- LANGLOIS. — Précis d'hygiène publique et privée, 1901.
- LECOMTE (A.). — Etude expérimentale de l'action physiologique des courants de haute fréquence. Thèse de Lyon, 1901.
- LÉVY (A.). — Comptes rendus de l'Ac. des Sc., t. LXXXVII, p. 1260.
- LE STUNF. — De l'ozone et de son emploi dans le traitement de la tuberculose pulmonaire. Thèse de Paris 1891.
- MARIÉ (P.). — De l'ozone. Thèse de Paris, 1880.
- MARMIER et ABRAHAM. — Procédés pour la stérilisation des eaux par l'ozone, 1900.
- MONTRICHER (H. de). — Sur la stérilisation des eaux potables par l'ozone. Communication au Congrès de Montauban pour l'avancement des Sciences, août 1902. Arch. d'élect. méd., nov. 1902.
- MORTON W. Y. et PARK. — Ozone and its uses in medicine New-York medical journal, 25 juin 1894.
- NORRIS. — Administration interne de l'ozone dans le traitement de la phtisie. The Lancet, t. II, 1892.

- OEHLMULLER. — Ueber die Einwirkung des Ozons auf Bacterien. Arbeiten aus dem K. Gensundheitstamte VIII et Hygiène Rund p. 134, 1893.
- ONIMUS. — Ozone et choléra. Gazette hebdomadaire de médecine et de chirurgie 1884.
- ORY. — Article ozone. Dictionnaire de médecine et de chirurgie pratiques, t. xxv, 1878. Comptes Rendus Acad. des Sc., 1897, p. 78.
- OTTO. — Bulletin des ingénieurs civils de France, février 1900. L'industrie de l'ozone. Paris 1900.
- OUDIN. — Ozone et effluves. Annales d'électrobiologie. Paris 1898.
- OUDIN et LABBÉ. — Action physiologique et thérapeutique de l'ozone. Congrès international d'électrobiologie et de radiologie médicales, 1900.
- RAUSOME (A.). — On the influence of the vitality of some pathogenic and other bacteria. The Lancet, 2 mars 1901.
- RICHARDSON. — L'ozone atmosphérique. Chem. News, t. xii, p. 181, 1865.
- SAINTE-CLAIRE-DEVILLE. — Comptes Rendus de l'Ac. des Sc. t. LX, p. 909, 1865.
- SCELLES de MONDÉSERT. — Bulletin de l'Acad. de Méd., 1864.
- SCHENBEIN. — Communication à la Société physique de Bâle, 1839.
Compte-rendu de l'Ac. des Sc., t. x, 1840.
Ueber einige mittelbare physiol. Wirkungen der atmosphär. Electricitat. Heules in Peuffers Zeitschrift Bd, E. 384, 1851.
- SCOUTETTEN (H.). — L'ozone, Paris 1856.
- SONNTAG (H.). — Ueber die Bedeutung des Ozons als desinficicus. Zeitschrift für Hygiene 1890.
- THÉNARD. — Comptes rendus de l'Ac. des Sc., t. LXXXV, p. 138, 1872.
- TROOST. — Traité de chimie, 1897.
- WYNOKOWITSCH. — Congrès des médecins russes à Saint-Petersbourg, janvier 1889.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	7
CHAPITRE PREMIER. — Production de l'ozone.....	11
CHAPITRE II. — Réactifs de l'ozone.....	31
Dosage de l'ozone.....	32
CHAPITRE III. — Ozone atmosphérique.....	40
CHAPITRE IV. — Propriétés générales. Toxicité.....	43
CHAPITRE V. — Propriétés bactériologiques.....	47
Faits d'observation.....	48
Résultats thérapeutiques.....	51
Données expérimentales.....	54
CHAPITRE VI. — Expériences sur le bacille de Koch.....	75
CHAPITRE VII. — Expériences sur le bacille de Lœffler et sur la toxine diphthérique.....	79
CONCLUSIONS.....	97
BIBLIOGRAPHIE.....	99

